



INSTITUTO POLITÉCNICO
DE VIANA DO CASTELO

Débora Macedo Duarte

Estudo da esferificação e tecnologia de produção
de esferas de alginato/pectina, de grandes dimensões
com o centro líquido.

Dissertação apresentada para a obtenção do grau de Mestre em
Empreendedorismo e Inovação na Indústria Alimentar

Trabalho efetuado sob a orientação da

Professora Doutora Rita Pinheiro

e co-orientação da

Professora Doutora Manuela Vaz Velho

Março de 2015

JÚRI

AGRADECIMENTOS

Quero agradecer à Frulact, S.A. por ter aceitado a realização do estágio curricular no âmbito do Mestrado Empreendedorismo e Inovação na Indústria Alimentar, pelo apoio prestado por todos os colaboradores e por acreditarem no trabalho dos estagiários.

À Engenheira Pilar Morais por todo conhecimento transmitido, pela dedicação e pela atenção prestada ao longo de todo projeto.

À Doutora Maria Helena Gomes pela orientação e dedicação prestada ao longo do projeto.

À minha orientadora, Professora Doutora Rita Pinheiro pela disponibilidade, colaboração e orientação na elaboração desta dissertação.

À minha co-orientadora Professora Doutora Manuela Vaz Velho pelo apoio prestado ao longo de todo o projeto e pelo apoio científico.

A toda a equipa em que estive inserida o meu verdadeiro agradecimento, por todo o apoio no decorrer do estágio: Maria Ana Marques, Cristina Rodrigues, Ana Ferreira, Bernardete Martins, Cláudia Lopes, Maria João Mendes e ao Celestino Oliveira que sempre me ajudaram quando precisei. A todas as pessoas do laboratório que sempre que precisei de ajuda, nunca disseram que não: a todos um Muito obrigada!

Agradeço à minha amiga Catarina Correia pelo apoio, pelos momentos de alegrias e também pela partilha das preocupações ao longo destes anos de amizade. Obrigada amiga!

Ao Leandro Oliveira pelo apoio incondicional.

À minha mãe que sem ela não seria possível concluir esta etapa muito importante, ao meu irmão por nunca me deixar desistir, Muito Obrigada!

A todos, o mais sincero Obrigada.

A elaboração da dissertação conduziu à realização dos seguintes trabalhos:

Comunicações em painel:

Débora Duarte, Manuela Vaz Velho and Rita Pinheiro (2014). Effect of a mix of xanthan and guar gum and different concentrations of sugar on “Bubble teas” shaping characteristics” 1st International Pleasure Conference “SALT-SUGAR-LIPIDS REDUCTION” 18th and 19th of June 2014 La Rochelle, France. Book of abstracts, pag 41.

D. Duarte, P. Morais, R. Pinheiro, M.H. Gomes, C. Barbosa, S.C. Fonseca, M. Vaz Velho (2014) Effect of different concentrations of starch on gel beads shaping and firmness characteristics. EuroSense 2014: A Sense of Life, Copenhagen, Denmark, 7-10 September 2014. Poster 124, Session 1.

Imprensa Nacional e Internacional:

Silva., A.R. (2014). “*A Nova vida da fruta*”- Descascada e pronta a comer, desidratada, em barra, às bolinhas ou em forma de coração, disponível em: <http://www.publico.pt/sociedade/noticia/a-nova-vida-da-fruta>.

Anónimo, (2014). “*Allma’s Chlorella Makes its Debut – In Bubble Tea and Sorbet*” em Food Ingredients, disponível em: <http://www.foodingredientsfirst.com/news/Allmas-Chlorella-Makes-its-Debut-In-Bubble-Tea-and-Sorbet.html>

Weston, S. (2014). “*Allma partners with Frulact and Santini for Chlorella bubble tea and sorbet*” em FoodBev.com, disponível em: http://www.foodbev.com/news/allma-partners-with-frulact-and-santini#.U-TO0_ldVK8

Starling, S. (2014). Portuguese player enters chlorella space em Nutra Ingredients, disponível em: <http://www.nutraingredients.com/Suppliers2/Portuguese-player-enters-chlorella-space>.

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo o desenvolvimento e otimização de esferas com centro líquido (Bubble) produzidas através da técnica de esferificação inversa.

O alginato e a pectina são hidrocolóides amplamente usados na indústria alimentar devido às suas propriedades gelificantes, espessantes e estabilizantes. A interação entre estes hidrocolóides tem suscitado interesse pela indústria alimentar, devido à capacidade de encapsulação de ingredientes alimentares utilizando dois tipos de esferificação direta ou inversa.

Para tal estudaram-se diferentes percentagens de amido de milho (1,5%, 2,0%, 2,5% e 3,0%) e diferentes concentrações de sacarose (15%, 32%, 45% e 64%) na formulação da solução do preparado. Posteriormente estudou-se o efeito das temperaturas do preparado (35°C, 45°C, 50°C e 75°C) na etapa de gotejamento e do banho de esferificação (27°C, 50°C e 70°C). Também se estudou o efeito da percentagem da pectina e alginato na formulação do banho nas características das esferas. Por fim avaliou-se a estabilidade das esferas incorporadas em preparado aromatizado e em iogurte ao longo de 2 meses.

O estudo do efeito do amido de milho demonstrou que para concentrações inferiores a 1,5% não há formação de esferas. No estudo relativo ao efeito da sacarose concluiu-se que a percentagem de 32% favorece a formação de esferas. Relativamente ao efeito da temperatura do preparado, verificou-se que o intervalo de temperatura de gotejamento deve situar-se entre 45°C e 50°C, uma vez que influencia a respetiva consistência. O banho de esferificação a 50°C promoveu uma maior resistência mecânica das esferas. O estudo da composição do banho de esferificação mostrou que as percentagens de pectina e alginato têm influência na firmeza das esferas. A concentração de 0,8% de alginato proporciona maior resistência às esferas, ao contrário da concentração de 1,5% de pectina que revelou ser a que diminui a firmeza das esferas. Os resultados obtidos na prova de análise sensorial, permitiram concluir que a composição do banho de esferificação influencia significativamente o tipo de película das esferas, pelo que se selecionou a formulação com 0,6% de pectina e com 0,6% de alginato pois foi a que apresentou uma película mais agradável, segundo a opinião do painel de provadores.

A avaliação da estabilidade das esferas, armazenadas em calda de conservação, permitiu concluir que ambas as formulações estudadas apresentaram o mesmo comportamento ao longo do tempo. O caso de estudo demonstrou que as Bubbles em calda de conservação, aplicadas em preparado aromatizado e em iogurte natural não sofrem grandes alterações significativas de textura ao longo dos 2 meses de armazenamento.

ABSTRACT

This work aimed to study the process variables for the production and characteristics of the spheres produced by the reverse spherification method in order to obtain spheres with a liquid center (Bubble). Pectin and alginate hydrocolloids are frequently applied in the food industry due to their gelling properties, as thickeners and stabilizers. The interaction between these hydrocolloids has raised interest in the food industry due to their ability to encapsulate food ingredients. This technique allowed the development of two types of spherification: direct or reverse.

Preparations were formulated using different proportions of corn starch (1.5%, 2.0%, 2.5% and 3.0%) and different concentrations of sucrose (between 15%, 32%, 45% and 64%). In addition to these, the effect of the dripping temperature (35°C, 45°C, 50°C e 75°C) and the spherification bath temperature (27°C, 50°C and 70°C), as well as the bath formulation (alginate in combination with pectin) were studied and related with the characteristics of the spheres. Finally the stability of spheres in flavoured preparation and yoghurt were studied.

The study of the effect of corn starch in various percentages showed that corn starch needs to be superior to 1.5% for spheres formation. The best sucrose concentration for obtaining correctly-formed beads was 32%. The temperature of the preparation affected the consistency of the mix and the best condition was found between 45°C and 50°C. The spherification bath at 50°C promoted the highest mechanical strength of spheres. Pectin and/or alginate concentration influenced the spheres firmness (compression force). A greater firmness was obtained with 0.8% alginate. In contrast, 1.5% pectin promoted the lowest resistance. Sensory evaluation showed that the type of film will depend on the composition of the bath and preferences were dependent on the panellists. The best combination was the interaction of alginate with pectin, since it would give a more organoleptically enjoyable film.

The evaluation of the stability of the beads over time in syrup using combinations of 0.75% pectin plus 0.6% alginate and 0.6% pectin plus 0.6% alginate, presented no differences in behavior over time. With regard to the case study, both the Bubbles in syrup, bubbles in a flavoured preparation, as well as in yogurt, do not undergo significant changes over time.

ÍNDICE GERAL

Júri	II
Agradecimentos	III
Resumo	V
Abstract	VI
Índice Geral	VII
Índice de Figuras	XI
Índice de Tabelas	XIII
1. Introdução	1
1.1 Apresentação da Empresa.....	1
1.2 Enquadramento do estudo.....	2
1.3 Objetivos.....	3
2. Revisão Bibliográfica	4
2.1 Hidrocolóides.....	4
2.1.1 Amido Modificado de Milho (E1442)	5
2.1.2 Goma Xantana (E415).....	6
2.1.3 Goma Guar (E412)	7
2.1.4 Pectina (E440 II)	8
2.1.5 Alginato (E401).....	10
2.2 Técnica de gelificação ou esferificação	15
2.2.1 A Pectina como agente gelificante	15
2.2.2 O Alginato como agente gelificante.....	17

2.3	Interação pectina-alginato	19
2.4	Gelificação interna e encapsulação	19
2.4.1	Aplicação da técnica de encapsulação na indústria alimentar	20
3.	Materiais e Métodos	23
3.1	Matérias-primas.....	23
3.2	Descrição do processo produtivo	24
3.3	Ensaio experimentais preliminares	25
3.3.1	Efeito da concentração de amido milho.....	26
3.3.2	Efeito da concentração de sacarose.....	26
3.4	Ensaio experimentais finais	27
3.4.1	Efeito da temperatura da solução do preparado	28
3.4.2	Efeito da temperatura da solução do banho de esferificação	28
3.4.3	Efeito da composição (alginato e pectina) do banho de esferificação	28
3.4.4	Estudo da estabilidade das esferas em preparado/Iogurte ao longo do tempo.....	29
3.5	Métodos Analíticos.....	31
3.5.1	Determinação do pH	31
3.5.2	Determinação do teor de sólidos solúveis (°Brix).....	32
3.5.3	Determinação da viscosidade.....	32
3.5.4	Determinação da Massa e das películas.....	33
3.5.5	Textura (análise instrumental)	33
3.5.6	Análise Sensorial	34

3.5.7	Análise Estatística	36
4.	Resultados e Discussão	37
4.1	Ensaio experimentais preliminares	37
4.1.1	Efeito da concentração do amido de milho	37
4.1.2	Efeito da concentração de sacarose	39
4.2	Ensaio experimentais finais.....	41
4.2.1	Efeito da temperatura do preparado	41
4.2.2	Efeito da composição (alginato e pectina) do banho de esferificação	44
4.2.3	Análise sensorial das esferas com diferentes concentrações de pectina e alginato.....	49
4.2.4	Estabilidade das esferas ao longo do tempo.....	51
4.3	Caso de estudo: Estudo das esferas em preparado / Iogurte ao longo do tempo.....	56
5.	Conclusões Gerais	60
6.	Referências Bibliográficas	62
	APÊNDICES	67
	Apêndice I – Fotos dos Equipamentos utilizados.	68
	Apêndice II - Resultados obtidos para os parâmetros de °Brix, pH, Viscosidade, das diferentes amostras de amido no ensaio preliminar e ANOVA.....	69
	Apêndice III – Resultados obtidos no efeito da temperatura do banho de esferificação. 70	
	Apêndice IV – Resultados obtidos no efeito da composição do banho de esferificação. 71	
	Apêndice V – Resultados obtidos dos parâmetros da análise sensorial, com média \pm desvio padrão associado.	73

Apêndice VI – Estabilidade das esferas ao longo do tempo.....	75
Apêndice VII – Caso de estudo: Estudo das esferas em preparado / Iogurte ao longo do tempo de vida.	80
Apêndice VIII – Outras aplicações das Bubbles	82

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Viscosidade da goma xantana a 0,5% em função da concentração do açúcar. Adaptado de Urlacher (1997)	7
Figura 2 - Goma guar a) vagens, b) sementes, c) pó. Adaptado de Prajapati <i>et al.</i> (2013)... 8	
Figura 3 - Relação do grau de esterificação da pectina com interação com o cálcio e os de produtos alimentares (May, 1997).....	9
Figura 4 - Estrutura do alginato: a) 1- β -D-manurónico (M), b) α -L-gulurónico (G), c) Cadeia de alginato (Draget <i>et al.</i> 2006).....	10
Figura 5 - Processo de extração de alginato a partir de algas marinhas. Adaptado de Draget <i>et al.</i> (2006).	11
Figura 6 - Variação da viscosidade do alginato em função da concentração e da massa molecular. Adaptado de Helgerud <i>et al.</i> (2010).	13
Figura 7- Efeito da concentração do cálcio na pectina de baixa metoxilação na formação de um gel forte (May, 1997).....	16
Figura 8 - Processo de gelificação do alginato com iões cálcio no modelo "caixa-de-ovos" (Helgerud <i>et al.</i> 2010).....	17
Figura 9 - Gelificação interna do alginato (Helgerud <i>et al.</i> 2010).	20
Figura 10 - Equipamento para encapsulção de um líquido ou suspensão com alginato. Adaptado de Helgerud <i>et al.</i> (2010).	21
Figura 11 – Pequenas esferas resultantes da esferificação direta (Moura <i>et al.</i> 2011).....	21
Figura 12 –Produto resultante da esferificação inversa (Moura <i>et al.</i> 2011).....	22
Figura 13- Fluxograma do processo produtivo da produção de esferas com centro líquido	24
Figura 14 - Perfil das esferas após pasteurização: a) com rebentamento das esferas e b) sem rebentamento das esferas.	34
Figura 15 - Ficha de prova utilizada no teste de análise sensorial.	35
Figura 16 - Esferas com diferentes percentagens de amido: a) 3,0%, b) 2,5% e c) 2,0%...	37

Figura 17 - Efeito da concentração de amido na firmeza das esferas, com respetiva média \pm desvio padrão.....	38
Figura 18 - Esferas com diferentes concentrações de sacarose a) 15%; b) 32%; c) 45% e d) 64%.....	40
Figura 19 - Esferas após a gelificação com diferentes temperaturas da solução de preparado.....	42
Figura 20 – Esferas obtidas de diferentes temperaturas do banho de esferificação: a) 27 °C, b) 50 °C e c) 70 °C.....	42
Figura 21 - Efeito da temperatura do banho de esferificação na firmeza das esferas, com respetiva média \pm desvio padrão de 15 repetições.	43
Figura 22 - Esferas obtidas a partir de diferentes composições de alginato e pectina no banho de esferificação.....	46
Figura 23 - Efeito das diferentes concentrações de alginato e pectina na firmeza das esferas, com respetiva média \pm desvio padrão de 15 réplicas.....	47
Figura 24 - Peso das películas das diferentes percentagens de pectina e alginato. Estes valores correspondem à média \pm desvio padrão de 5 repetições.....	48
Figura 25 - Classificação média das características dos atributos das diferentes composições em análise. A separação de médias pelo teste Tukey foi realizado por atributos separadamente.	50
Figura 26 - Resultados obtidos da força de compressão das esferas nas diferentes composições durante 28 dias e respetiva média \pm desvio padrão associado.....	53
Figura 27 - Variação do peso das esferas das diferentes composições ao longo de 28 dias e respetiva média \pm desvio padrão associado de 3 repetições.....	54
Figura 28 - Valores obtidos do teor de sólidos solúveis dos dois estudos i) xarope e ii) esferas trituradas, com o respetivo média \pm desvio padrão com 3 repetições.....	55
Figura 29 - Valores obtidos do pH dos dois estudos, i) xarope e ii) esferas trituradas, com o respetivo média \pm desvio padrão com 3 repetições.....	56
Figura 30 - Variação da força de compressão (firmeza) das esferas no efeito do tempo/aplicação e respetiva análise estatística associada.	57
Figura 31 - Variação da força de compressão das esferas no preparado e preparado+ iogurte no efeito do tempo/aplicação e respetiva análise estatística associada.....	58

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 – Origem dos principais hidrocolóides disponíveis no mercado. Adaptado de Williams (2009).....	5
Tabela 2- Matérias-primas utilizadas.	23
Tabela 3 – Composição de sacarose, amido e goma xantana nos ensaios realizados.	26
Tabela 4 - Composição de sacarose, goma xantana e goma guar nos diferentes ensaios realizados.	27
Tabela 5 – Composição da solução de preparado utilizada nos ensaios para produção de esferas (bubble).....	28
Tabela 6 – Composição do banho de esferificação dos diferentes ensaios realizados.	29
Tabela 7 - Representação da calendarização da experiência.	29
Tabela 8 - Formulação utilizada para produção do preparado aromatizado.....	30
Tabela 9 – Resultados obtidos das combinações de amido com goma xantana (valores médios \pm desvio padrão de 3 repetições).....	38
Tabela 10 – Efeito da concentração de sacarose nos valores de pH, °Brix, viscosidade e formação de esferas.	40
Tabela 11 – Valores de pH e °Brix na combinação de alginato e pectina do banho de esferificação.....	45
Tabela 12 - Resultados obtidos da força de compressão das esferas dos estudos, 0,60% pectina/0,6% alginato (A) e do estudo 0,75% pectina/0,6% alginato (B), ao longo do tempo. Os valores correspondem às médias \pm desvio padrão de 15 repetições.	52
Tabela 13 - Resultados obtidos da firmeza, pH e °Brix das difentes aplicações ao longo to tempo. Com as respetivas médias \pm desvio padrão de 3 repetições.	57

1. INTRODUÇÃO

1.1 Apresentação da Empresa

Com a globalização dos mercados é cada vez mais importante que as empresas sejam competitivas e inovadoras. Hoje em dia existe um nível de exigência do consumidor cada vez maior, o que leva a uma maior procura de produtos diferenciados e com grande qualidade. Esta nova visão dos consumidores obriga as indústrias a procurar novas tecnologias, bem como a apostar no potencial humano, técnicos mais especializados, de forma a diferenciarem-se no mercado para assim obter novos produtos cada vez mais inovadores e competitivos.

A empresa Frulact - Indústria Agro-alimentar, S.A., onde decorreu o presente estágio curricular, é uma empresa que procura apostar na Inovação, Desenvolvimento e Investigação para desta forma garantir o sucesso e afirmar-se no mercado.

A Frulact nasceu em 1987 com a sua primeira unidade fabril na Maia, em 1998 e expandiu-se para a Covilhã, no Ferro, com uma nova unidade fabril, localizada nas proximidades das grandes zonas de cultivo de fruta. Passado um ano a Frulact chega a Marrocos e no ano seguinte, em 2000, chega à Tunísia com uma nova fábrica, que serve de plataforma de aprovisionamento aos mercados do Norte de África e Médio Oriente.

Em 2006 a Frulact aposta numa nova fábrica em Tortosendo, na Covilhã, para se aproximar das zonas de elevada produção frutícola. No mesmo ano adquire uma empresa francesa. A Frulact em França reforça a estratégia de proximidade aos clientes. Um ano depois aumenta a sua entrada no Norte de África e no Médio Oriente com a instalação de uma unidade fabril na Argélia e outra em Marrocos.

Em 2012 marca a concretização do Frutech, Centro de Inovação e Tecnologia Agro-Alimentar, que serve de alavanca à aposta e otimização dos investimentos realizados (Anónimo 1, 2014).

1.2 Enquadramento do estudo

Segundo as novas tendências do mercado, a sociedade atual preocupa-se cada vez mais com um estilo de vida saudável. Esta atitude facilmente se observa na procura de produtos naturais, saudáveis, mas ao mesmo tempo práticos, que não despendam muito tempo na sua preparação. Mas, se por um lado os consumidores desejam consumir produtos que tragam benefícios para a saúde, por outro não querem abdicar das qualidades sensoriais dos mesmos. A necessidade de conveniência levou a Frulact a desenvolver novos produtos à base de fruta, como por exemplo as “Bubble Tea”, que são esferas de fruta com um centro líquido (com cor e aroma), e que podem ser incorporadas em diversos produtos da indústria de bebidas, de lacticínios entre outras.

A Bubble Tea é uma bebida originária da Tailândia, que apareceu na década de 80. Esta bebida pode ser ingerida quente ou fria e está disponível numa infinidade de sabores. Pode ser preparada usando uma base de chá que pode conter no seu interior esferas de vários sabores, como por exemplo “pérolas” de tapioca ou “popping boba” (esferas com fruta no interior) (Anónimo 2, 2014). Trata-se de um produto alternativo à fruta e que proporciona uma explosão de sabores diferentes ao trincar a esfera e sentir o recheio. Trata-se de um produto alimentar não só comestível, mas com valorização visual e sensorial.

O presente estudo integra-se num trabalho que está a ser desenvolvido na Frulact, e que tem como objetivo o desenvolvimento de produtos à base de fruta que sejam de conveniência e de fácil consumo, visto que cada vez mais a sociedade tem menos tempo para consumir fruta e também para a descascar.

1.3 Objetivos

O presente trabalho teve como principal objetivo o desenvolvimento de “Bubble”, isto é de esferas de alginato e pectina com 1cm de diâmetro, que apresentem determinadas características de textura, pH, °Brix e sensoriais. Para tal, realizaram-se diversos ensaios para otimizar a estrutura e a estabilidade destas esferas. Após a obtenção da formulação mais adequada fez-se um estudo de incorporação numa matriz real (iogurte). O trabalho desenvolvido contemplou as seguintes atividades:

- Avaliação de diferentes concentrações de hidrocolóides;
- Estudo da composição da solução do banho de esferificação;
- Estudo das temperaturas adequadas tanto para a solução de preparado como para a solução do banho de esferificação;
- Estudo do binómio tempo/temperatura ótimo do processo de pasteurização.
- Estudo da estabilidade das esferas ao longo do tempo (28 dias).
- Estudo da estabilidade das esferas aplicadas num preparado aromatizado / Iogurte ao longo do tempo de vida (2 meses).

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Neste capítulo são apresentados os fundamentos teóricos que foram objeto de estudo e suportam o presente trabalho.

2.1 Hidrocolóides

Os hidrocolóides são um grupo heterogêneo de polímeros de cadeia longa (polissacarídeos e proteínas), caracterizados pela capacidade em formar dispersões viscosas ou géis quando dispersos em água. A presença de um grande número de iões hidroxilo (-OH), vai aumentar acentuadamente a sua afinidade de ligação para as moléculas de água tornando-os compostos hidrofílicos (Saha e Bhattacharya, 2010). A sua aplicação na composição de diversos alimentos deve-se à capacidade dos hidrocolóides em modificar a reologia do sistema alimentar, ao nível das propriedades: comportamento de fluxo (viscosidade) e a propriedade sólida mecânica (textura). A modificação da textura e/ou da viscosidade do produto alimentar ajuda a modificar também as respetivas propriedades sensoriais, o que leva à sua utilização como aditivos alimentares para produzir um produto com as características desejadas (Saha e Bhattacharya, 2010).

Segundo o Regulamento (CE) N°1332/2008, aditivos alimentares “são substâncias que não são consumidas habitualmente como géneros alimentícios em si mesma, mas que são intencionalmente adicionadas aos géneros alimentícios para atingir determinado objetivo tecnológico, como por exemplo na conservação dos géneros alimentícios”.

Os hidrocolóides podem atuar nos alimentos como: espessantes, gelificantes, emulsionantes, ou estabilizantes. Podem ser utilizados também como inibidores de crescimento de cristais de gelo e de açúcar, embora as propriedades mais utilizadas na indústria alimentar são as de espessantes e gelificantes (Saha e Bhattacharya, 2010).

Apesar destes serem utilizados em pequenas concentrações inferiores a 1%, podem ter uma grande influência sobre as propriedades de textura e organoléticas dos produtos alimentares. Na Tabela 1 encontram-se os principais hidrocolóides utilizados na indústria alimentar, assim como a sua origem (Williams, 2009).

Tabela 1 – Origem dos principais hidrocolóides disponíveis no mercado. Adaptado de Williams (2009).

Origem	Hidrocolóides
Plantas	Celulose Pectinas (estrutural), Amidos e derivados (reserva), Goma arábica (exsudado) Goma alfarroba (sementes) Goma guar (sementes), Tara (sementes) Konjac (tubérculos).
Algas	Agar, Carragenato Alginato
Microrganismos	Xantana Gelana
Animais	Gelatina, Proteína do ovo Caseína

2.1.1 Amido Modificado de Milho (E1442)

O amido é dos produtos vegetais mais utilizado na indústria alimentar, uma vez que é um hidrocolóide barato, abundante e não apresenta qualquer sabor desagradável, podendo ser usado em baixas concentrações, entre 2% a 5% (Rapaille, 1997). Por outro lado existe uma grande variedade de amidos, que podem ser extraídos do milho, batata doce, arroz, mandioca, batata, milho ceroso entre outros, sendo que os mais utilizados são de milho, batata, mandioca e trigo, podendo aparecer como amidos nativos ou modificados. Os amidos de diferentes origens possuem propriedades individuais quanto à forma, tamanho, distribuição, composição e cristalinidade dos grânulos (Belitz *et al.*, 2009).

A forma mais comercial do amido contém duas moléculas estruturalmente distintas a amilose e a amilopectina numa razão de 1:3 respetivamente. A amilose é uma cadeia linear de resíduos de α -D-glucose ligados entre si por ligações glicosídicas α -(1-4). A amilopectina é uma macromolécula ramificada produzida por transglicosilação de vários comprimentos de cadeias de α -D-glucose, ligadas α -(1-4). Nos pontos de ramificação as ligações que aparecem são α -(1-6) (Zobel e Stephen, 2006).

O processo de gelatinização consiste no aquecimento dos grânulos de amido, a uma temperatura de 90°C em água. Durante este processo ocorrem mudanças irreversíveis tais como a quebra de ligações de hidrogénio, absorção de água, inchamento dos grânulos de amido, fusão de cristais ou hélices duplas, e solubilização, o que geralmente proporciona um aumento da viscosidade do sistema. A temperatura a que ocorre a gelatinização varia de acordo com o tipo de amido utilizado. Por outro lado a temperatura de gelatinização diminui com a utilização de sais alcalinos, de açúcares, de surfactantes ou pela aplicação de outros tratamentos (Zobel e Stephen, 2006).

2.1.2 Goma Xantana (E415)

A goma xantana é um polissacarídeo produzido pela bactéria *Xanthomonas campestris*, por fermentação. Este processo é realizado através da fermentação aeróbia submersa num meio estéril contendo hidratos de carbono, fonte de azoto, fosfato de potássio e outros minerais, inoculado com a estirpe selecionada (Urlacher, 1997).

A molécula de goma xantana é composta por um estrutura de 1,4-ligadas β -D-glucose, com cadeias laterais, que contém uma manose, um ácido glucorónico e um de manose acetilados. É facilmente solúvel em água, tanto em água quente como fria, proporciona soluções altamente viscosas, sendo estável numa gama ampla de temperaturas entre 0°C e 100°C e também numa gama de pH, entre 1 e 13 (Quemener *et al.*, 2000).

Os géis de goma xantana passam por uma transição conformacional sob a influência da temperatura, podendo indicar que a goma xantana vai de um estado ordenado rígido para um estado desordenado mais flexível. Segundo Milas (1984) e Rinaudo (1986) a goma xantana pode ter duas conformações: conformação nativa A e uma conformação desnaturada B. A conformação B tem o mesmo peso molecular que a forma nativa, mas com maior viscosidade, para a mesma concentração. Por outro lado, pode existir um aumento da viscosidade com o aumento da concentração de açúcar ou da percentagem de goma utilizada. Pela observação da Figura 1 verifica-se que mantendo a percentagem de goma xantana (0,5%), e variando a concentração de açúcar, quanto maior a percentagem de açúcar maior será a viscosidade.

No que diz respeito à temperatura de mudança, esta depende de vários fatores: da concentração da goma, da força iónica, das quantidades de ácido pirúvico e acético que esta pode conter. Por exemplo a temperatura de mudança com água destilada e com baixas concentrações (0,1% - 0,3%), é 40°C, na presença de uma quantidade pequena de sal e concentrações utilizada em aplicações alimentares a transição térmica ocorre a temperaturas muito mais elevadas, geralmente superiores a 90°C, diminuindo deste modo a viscosidade com o aumento da temperatura (Urlacher, 1997).

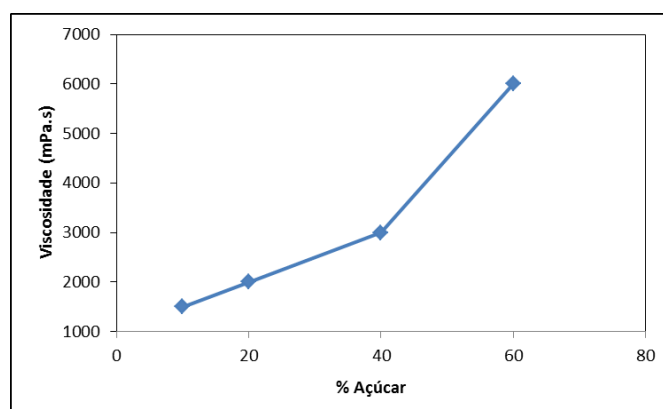


Figura 1 - Viscosidade da goma xantana a 0,5% em função da concentração do açúcar. Adaptado de Urlacher (1997).

A goma xantana é amplamente utilizada na indústria alimentar como espessante, gelificante, estabilizante e ainda associada com outras gomas pode proporcionar aos produtos líquidos uma textura lisa com elevada qualidade (Quemener *et al.*, 2000).

As gomas mais utilizadas em sinergia com a goma xantana são a goma guar e a goma alfarroba, mais conhecidas por galactomananas. A interação entre a goma xantana e a goma guar é bastante utilizada na indústria alimentar, pois resulta essencialmente num aumento da viscosidade dos produtos (Urlacher, 1997).

2.1.3 Goma Guar (E412)

A goma guar é obtida do endosperma da semente da planta leguminosa *Cyamopsis tetragonoloba* (Mudgil *et al.*, 2014). A estrutura química da goma guar é constituída por um galactomanano de cadeia linear, que é 75-85% do endosperma, tem uma cadeia de (1-4) ligados a uma β -D-manopiranosil com unidades individuais α -D-galactopiranosil ligadas

à cadeia principal por ligações α -(1-6) (Prajapati *et al.*, 2013). Na Figura 2 é possível observar algumas formas da goma guar, as quais podem ser encontradas em forma de vagens, sementes ou pó, sendo esta última a forma mais comercializada e utilizada pela indústria alimentar.



Figura 2 - Goma guar a) vagens, b) sementes, c) pó. Adaptado de Prajapati *et al.* (2013).

A goma guar pode ser dissolvida tanto em água fria como em água quente, podendo formar soluções altamente viscosas, ou pode ainda ser utilizada em alimentos como película, emulsionante, estabilizante, agente de suspensão e espessante. A goma guar é utilizada como estabilizante em percentagens inferiores a 1%, evitando assim a sedimentação de molhos e bebidas. Pode ser utilizada em produtos cozidos e bolos de forma a reduzir a retrogradação do amido e melhorar a textura ao longo do tempo (Manthey e Xu, 2010).

A goma guar interage de forma sinérgica com a goma xantana, pois proporciona um aumento da viscosidade das soluções. A mistura das gomas xantana e guar em pequenas percentagens alteram as propriedades reológicas do produto e atuam como agente espessante (Fox, 1997). Segundo a *Food and Drug Administration* (FDA) a goma de guar é classificada como *Generally Recognized as Safe* (GRAS) e a concentração máxima permitida de goma guar em alimentos é de 2% (Nussinovitch e Hirashima, 2013).

2.1.4 Pectina (E440 II)

A pectina é um polímero natural que se encontra nas paredes celulares da maioria das plantas, sendo bastante utilizada na indústria alimentar (Munarin *et al.*, 2012).

Comercialmente as pectinas são obtidas através de cascas de citrinos e do bagaço da maçã (Rolin,1990), sendo extraídas a partir de métodos químicos ou enzimáticos (Munarin *et al.*, 2012). É um polissacarídeo ramificado constituído principalmente por polímeros de ácido galacturónico, ramnose, arabinose e galactose presente nas paredes celulares das plantas. Dependendo da fonte da pectina e do modo de extração, os grupos carboxilo das unidades de ácido galacturónico estão parcialmente esterificados por metanol e, em certas pectinas, são parcialmente acetiladas (Wang *et al.*, 2002). Comercialmente as pectinas são divididas em pectinas de alta metoxilação e pectinas de baixa metoxilação, com diferentes tipos de grau de esterificação (Rolin e Vries, 1990). Quanto maior o grau de esterificação maior será a velocidade de gelificação, como é possível verificar na Figura 3.

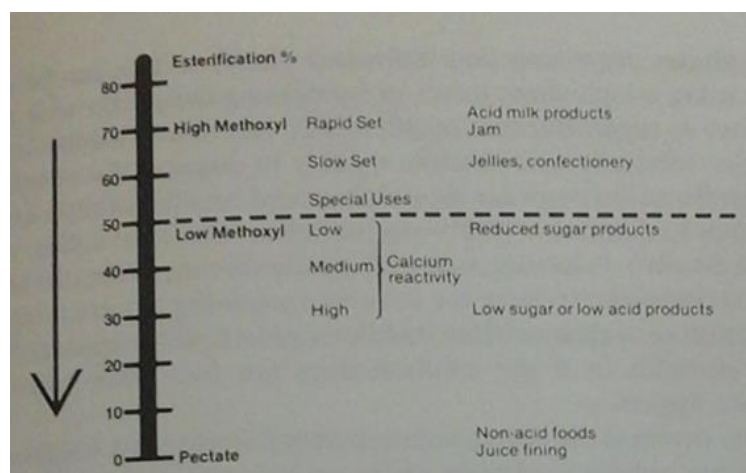


Figura 3 - Relação do grau de esterificação da pectina com interação com o cálcio e os de produtos alimentares (May, 1997).

As pectinas de alta metoxilação são conhecidas como agentes de gelificação, pois formam géis em concentrações de açúcar elevadas (superior a 60%) e a baixo pH (entre 3,2 e 3,4), enquanto que as pectinas de baixa metoxilação, ou pectinas amidadas, formam géis na presença de cálcio (May, 1997).

Segundo a *Joint Food and Agriculture Organization World Health Organization Experts Committee on Food Additives* (JECFA), a pectina e a pectina amidada não apresentam nenhuma quantidade máxima utilizada nos produtos alimentares, sendo

declaradas como inofensivas toxicologicamente (May, 1997), podendo ser utilizadas como “quantum satis”.

2.1.5 Alginato (E401)

O alginato é o polissacarídeo mais abundante nas algas castanhas, da classe da *Phaeophyceae* em particular das espécies *Ascophyllum nodosum*, *Laminaria digitata* e *Macrocystis pyrifera*, constituindo cerca de 40% da respectiva matéria seca. Encontra-se localizado na matriz intercelular das algas e contém, como um gel contendo na sua composição sódio, cálcio, magnésio, estrôncio e bário (Draget *et al.*, 2006).

É um polissacarídeo não ramificado constituído por uma alternância de ácido β -D-manurónico (M) e o seu epímero ácido α -L-gulurónico (G), com ligações 1-4. Este contém uma sequência de blocos M e blocos G intercalados com sequências MG e GM (Figura 4). Embora seja possível obter alginatos a partir de várias fontes, (algas e bactérias), estes encontram-se apenas disponíveis comercialmente a partir de algas (Draget *et al.*, 2006).

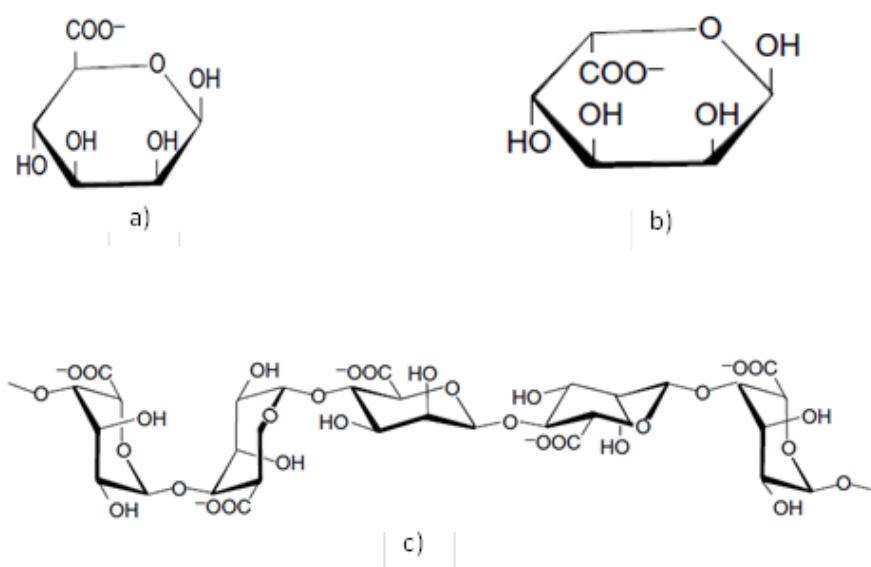


Figura 4 - Estrutura do alginato: a) 1- β -D-manurónico (M), b) α -L-gulurónico (G), c) Cadeia de alginato (Draget *et al.* 2006).

O ácido algínico é a forma ácida livre do alginato, tendo por isso uma estabilidade limitada. Para os produtos de alginato solúveis em água se tornarem estáveis é necessário transformar o ácido algínico em alginatos comerciais com a incorporação de diferentes sais tais como: carbonato de sódio, carbonato de potássio, hidróxido de amônio, hidróxido de magnésio, cloreto de cálcio, ou óxido de propileno (Draget *et al.*, 2006).

A Figura 5 mostra o processo de extração do alginato de algas marinhas para obtenção do alginato de sódio, para ser comercializado e aplicado na indústria alimentar.

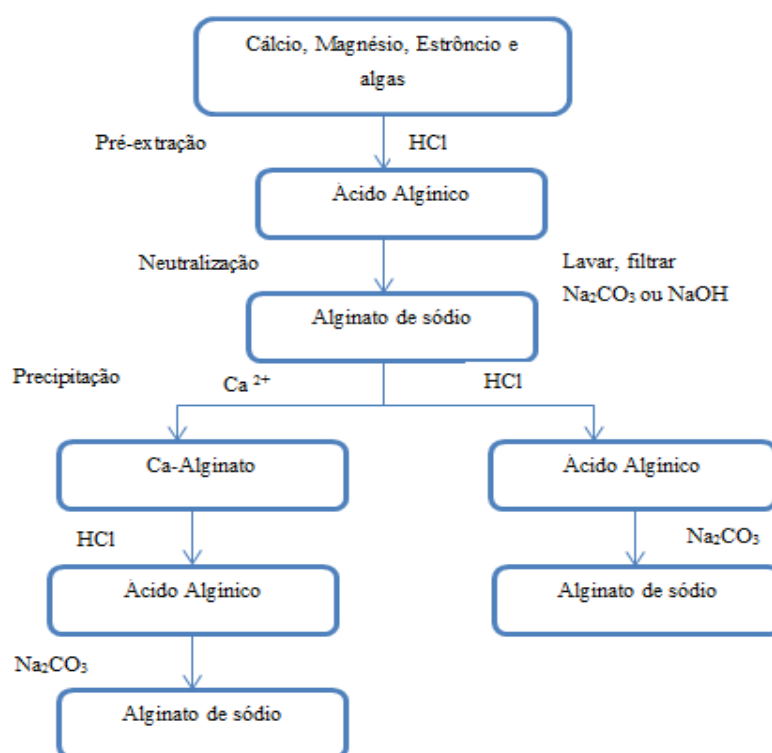


Figura 5 - Processo de extração de alginato a partir de algas marinhas. Adaptado de Draget *et al.* (2006).

O alginato tem propriedades de espessante e gelificante. Em percentagens de 0,25 a 0,5% tem a capacidade de melhorar e estabilizar a consistência de recheios para produtos de panificação, molhos para salada e chocolates de leite. Prevenindo ainda a formação de

cristais de gelo nos gelados durante o seu armazenamento. É ainda utilizado em produtos com texturas de géis como os pudins, géis de fruta, géis de sobremesa e imitação de caviar e também utilizado na estabilização de sumos de fruta fresca e na espuma da cerveja (Belitz *et al.*, 2009).

Os alginatos têm sido aceites na indústria alimentar, como aditivos alimentares e também são reconhecidos como seguros (GRAS), pela FDA e pela Comunidade Europeia, estando também listados na *Food and Agriculture Organization* (FAO) e no *Codex Alimentarius* (Helgerud *et al.*, 2010).

De uma forma geral, os alginatos são usados como aditivos, para melhorar, modificar e estabilizar a textura de determinados alimentos, tendo como principais propriedades o melhoramento da viscosidade do produto, capacidade de formação de gel, e a estabilização de misturas aquosas, dispersões e emulsões. Algumas destas capacidades advêm das propriedades físicas inerentes dos alginatos, mas também podem resultar de interações com outros componentes do produto alimentar, por exemplo, proteínas, gordura ou fibras.

O consumo global de alginato encontra-se em crescimento contínuo, pois cada vez mais, a sua utilização proporciona uma melhor utilização dos recursos alimentares e certamente, haverá um aumento do volume de alginato aplicado para fins alimentares. Nos últimos anos o mercado alimentar, tem utilizado cada vez mais inúmeras aplicações de encapsulamento, sendo utilizado em probióticos, aromas e óleos alimentares funcionais, sem sofrerem qualquer deterioração (Draget *et al.*, 2006).

2.1.4.1 Fatores que influenciam as propriedades da solução do alginato

Existem diversos fatores que influenciam as propriedades dos alginatos tanto ao nível das propriedades físicas (massa molecular, temperatura e solventes miscíveis em água) como das propriedades químicas (pH, sequestrantes, sais monovalentes e iões cálcio).

a) Massa Molecular

A viscosidade de uma solução de alginato está diretamente relacionada com a massa molecular, porém esta pode ser significativamente alterada pelos níveis de resíduos de cálcio resultantes da produção. A maioria dos alginatos comerciais de elevada viscosidade tem um peso molecular superior a 150.000 KDa correspondente a um grau de polimerização de cerca de 750 (Sime, 1990).

Quanto maior for a massa molecular do alginato, maior será a sua viscosidade, podendo desta forma melhorar as propriedades físicas de um gel (Figura 6) (Lee e Mooney, 2012)

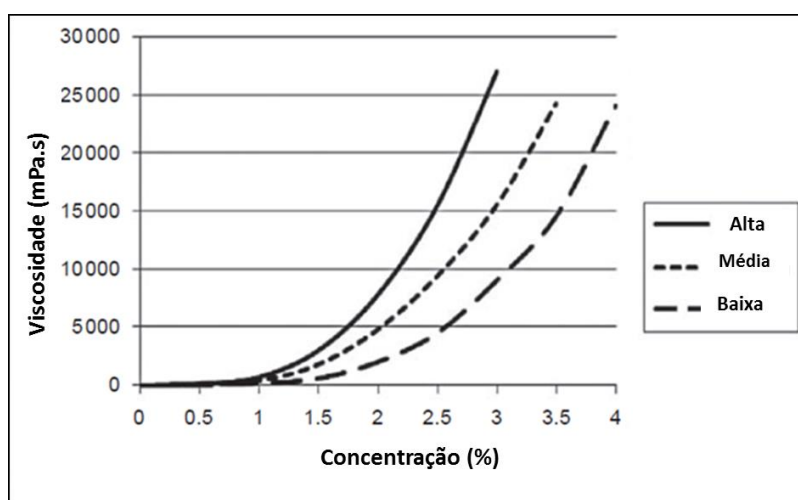


Figura 6 - Variação da viscosidade do alginato em função da concentração e da massa molecular. Adaptado de Helgerud *et al.* (2010).

b) Temperatura

Com o aumento da temperatura, as soluções de alginato tendem a diminuir a sua viscosidade, como é o caso da maioria dos polissacarídeos. A solução de alginato reduz a sua viscosidade em cerca de 12% com um aumento de 5,5°C, o que pode levar a uma despolimerização térmica. Por outro lado, a redução da temperatura causa um aumento de viscosidade na solução de alginato, mas não resulta na formação de um gel. Assim uma solução de alginato de sódio, que sofre um processo de congelação e de seguida descongelação não terá a sua aparência ou viscosidade alteradas (Sime, 1990).

c) Solventes Miscíveis em água

No que diz respeito à adição de solventes não aquosos, mas miscíveis em água, por exemplo adição de álcool ou glicol, a uma solução de alginato, vai resultar num aumento da viscosidade do sistema e numa possível precipitação, contudo para isto acontecer os níveis de solventes adicionados têm que ser elevados. A fonte de alginato, o grau de polimerização, os cátions presentes e a concentração na solução vai afetar a tolerância dos solventes na solução de alginato (Sime, 1990).

d) pH

Quanto menor for a massa molecular do alginato e menor o valor de pH mais estável será a solução final. Embora as soluções de alginato de sódio pareçam tolerar valores de pH elevados, a estabilidade ao longo tempo é fraca acima de pH 10, pois ocorre a β -eliminação e a hidrólise, resultando na despolimerização, o que vai levar a uma perda da viscosidade.

O propileno glicol alginato (PGA) é mais estável em valores de pH ácido do que o alginato de sódio e, por isso, podem ser utilizados para espessar e estabilizar produtos ácidos, como por exemplo em molhos para saladas. O alginato de sódio precipita a um pH abaixo de 3,5 (Sime, 1990).

e) Sequestrantes

Os sequestrantes são utilizados nas soluções de alginato de forma a prevenir que este reaja com os iões polivalentes na solução ou para sequestrar o cálcio inerente ao alginato. Os iões polivalentes podem aparecer na água, nos produtos químicos, nos pigmentos, entre outros. A viscosidade da solução de alginato depende do peso molecular e do nível de cálcio residual. Os sequestrantes podem ser usados para controlar a viscosidade, devido à presença do cálcio residual (Sime, 1990).

f) Iões Monovalentes

A viscosidade de uma solução de alginato de sódio diminui quando são adicionados sais monovalentes, pois o polímero de alginato reduz à medida que a força iónica da solução aumenta. Por outro lado, à medida que a concentração de alginato aumenta, o

efeito dos eletrólitos diminui, exceto para alginatos ricos em cálcio. Se a concentração do sal aumenta e a viscosidade da solução também aumenta, este efeito é mais evidente quando o armazenamento é prolongado. Desta forma, o efeito dos sais varia consoante a fonte de alginato, o grau de polimerização, a concentração da solução e do tipo de sal monovalente utilizado (Sime, 1990).

2.2 Técnica de gelificação ou esferificação

2.2.1 A Pectina como agente gelificante

As pectinas apresentam-se como ingredientes importantes na indústria alimentar, pois são capazes de formar géis na presença de iões cálcio, açúcar e ácido, dependendo das características do polímero. Molecularmente, um gel de polissacarídeos consiste nos seguintes elementos (Thakur *et al.*, 1997):

a) Zonas de junção onde duas ou mais cadeias estão unidas por ligações cruzadas – estas zonas podem envolver uma simples ligação covalente ou a combinação de ligações hidrogénio e interações hidrofóbicas entre duas cadeias lado a lado;

b) Segmentos de inter-junção de polímeros que podem estar móveis, tornando assim o gel mais flexível;

c) Água retida na rede de polímero.

2.2.1.1 Mecanismo de Gelificação

a) Gelificação das pectinas de alta metoxilação

A gelificação das pectinas de alta metoxilação é um processo bastante complexo que envolve vários tipos de interações intermoleculares. Os géis de pectina de alta metoxilação são normalmente obtidos na presença de concentração elevadas de sacarose (55-75%), ou de outros co-solutos (por exemplo, sorbitol), sendo esta utilizada pela sua capacidade de retenção de água, minimizando assim as interações de pectina-solvente. Na

presença de pH baixo, entre 2,5 e 3,5, pode diminuir a baixa ionização dos grupos carboxílicos e desta forma a sua repulsão eletrostática (Silva e Rao, 2006).

b) Gelificação das pectinas de baixa de metoxilação

A gelificação das pectinas de baixa metoxilação é formada a partir da presença de íões cálcio, que atuam como ponte entre dois grupos carboxilo dissociados e pertencentes a diferentes cadeias de pectina, mas relativamente próximas. A ligação iônica entre os íões cálcio e os grupos carboxílicos é descrita como o modelo “caixa-de-ovos”, semelhante ao método de utilizado pelo alginato, envolvendo numa primeira fase um processo de dimerização e depois a sua agregação. Neste modelo os íões cálcio ocupam as cavidades eletronegativas numa dupla estrutura de ácidos galacturônicos, que formam dímeros com simetria helical, onde os íões cálcio encontram-se entre as cadeias como os ovos nas caixas de ovos (Silva e Rao, 2006; Thakur *et al.*, 1997).

Por outro lado este tipo de pectinas apresentam uma vantagem pois são tolerantes a diferentes concentrações de cálcio como é possível verificar na Figura 7. Contudo existem vários parâmetros que podem afetar a gelificação das pectinas de baixa metoxilação tais como: quantidade de cálcio, o pH e os sólidos solúveis. O pH deve ser próximo de 3,0 e com uma concentração de açúcar inferior a 50% (May, 1997).

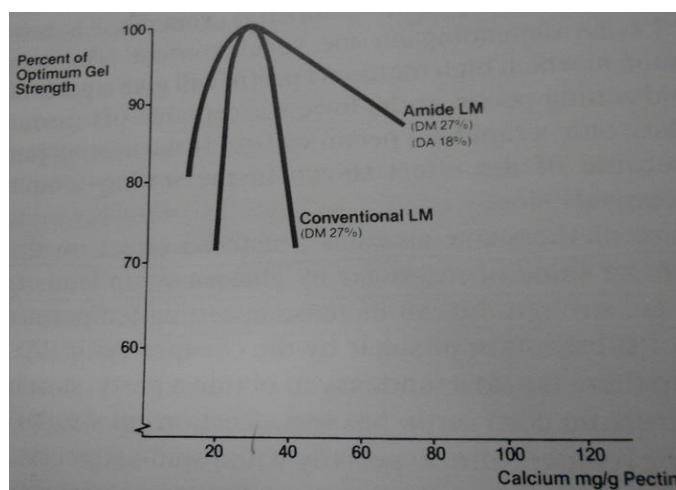


Figura 7- Efeito da concentração do cálcio na pectina de baixa metoxilação na formação de um gel forte (May, 1997).

2.2.2 O Alginato como agente gelificante

A principal propriedade que resulta da estrutura em bloco é a capacidade que os alginatos têm para formar géis. Em aplicações alimentares o ião cálcio, apresenta grande interesse na formação de géis. A principal vantagem dos alginatos na formação de géis é a sua capacidade em formar géis estáveis ao calor (Helgerud *et al.*, 2010).

2.2.2.1 Mecanismo de Gelificação

a) Géis de Alginato-cálcio

De modo a reagir com o cálcio para formar um gel, o alginato tem que conter uma determinada proporção de ácido gulurónico e estes monómeros devem estar em série (Helgerud *et al.*, 2010). As regiões do ácido poligulurónico de uma molécula de alginato são ligadas a uma região semelhante através de catiões cálcio. A capacidade na formação de gel e a sua resistência, está relacionada com a quantidade e o comprimento dos blocos G. O que significa que quanto maior a quantidade de blocos G, maior a capacidade da reação com o cálcio, proporcionando assim uma boa formação de géis (Onsoyen, 1997). Deste modo, o mecanismo de formação do gel baseia-se na interação entre as moléculas de alginato e os iões cálcio, que é explicado mais uma vez, pelo modelo “caixa-de-ovos”, onde os iões de cálcio vão se encaixar entre as cadeias do ácido gulurónico do alginato de forma idêntica a um ovo dentro de uma caixa-de-ovos (Figura 8) (Helgerud *et al.*, 2010).

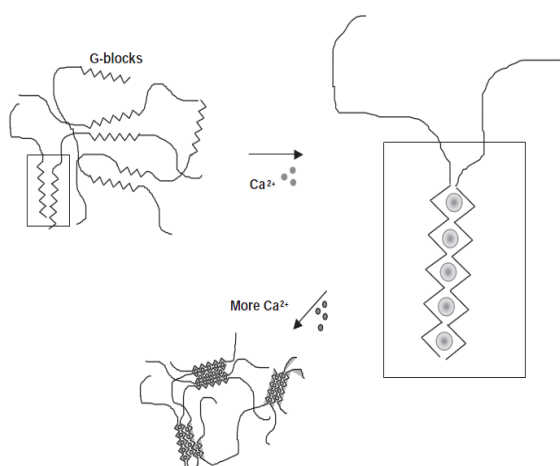


Figura 8 - Processo de gelificação do alginato com iões cálcio no modelo "caixa-de-ovos" (Helgerud *et al.* 2010).

Um gel de alginato pode ser considerado como uma parte sólida e outra parte em solução, representado pelas zonas de junção do estado sólido. Após a gelificação, as moléculas de água estão fisicamente aprisionadas pela matriz ou rede do alginato, mas continuam livres de forma a poder migrar, este fato pode trazer consequências importantes em várias aplicações (Onsoyen, 1997).

b) Géis de ácido algínico

Os géis de ácido algínico são formados de forma idêntica aos géis de alginato de cálcio através das zonas de junções quando são adicionados prótons a uma solução de alginato. Neste tipo de géis, as ligações de hidrogénio entre as regiões homopoliméricas de moléculas de alginato adjacente são protonadas para formar as zonas de junção, mas para estas serem estáveis é necessário criar um número mínimo de ligações intermoleculares consecutivas. As características dos géis de ácido algínico demonstram ser menos dependentes do processo de formação, ao contrário dos géis de alginato de cálcio (Onsoyen, 1997).

c) Sinerese

Após a gelificação, as moléculas de água aprisionadas pela rede do gel de alginato, através de ligações de hidrogénio, ainda apresentam liberdade de migração por difusão. Se contrair a rede do gel, algumas moléculas de água irão ser expulsas para o exterior, a este fenómeno designa-se de sinérese. Neste tipo de géis de alginato, a sinérese depende de parâmetros tais como a quantidades de blocos MG, da concentração de cálcio, do mecanismo e do seu peso molecular. Géis preparados a partir de alginatos com baixo peso molecular apresentam menor sinérese do que géis de alginato com elevado peso molecular e alginatos que apresentam elevadas estruturas de sequências alternadas de MG e segmentos elásticos mais flexíveis, apresentam níveis de sinérese mais elevados. Por outro lado a presença de cálcio em excesso, pode provocar um aumento da sinérese. A gelificação interna tende a formar géis com baixa sinérese, quando comparada com géis de alginato definidos externamente, a proporção entre o cálcio e o alginato é fácil de controlar (Helgerud *et al.*, 2010).

2.3 Interação pectina-alginato

De um modo geral a pectina não mostra qualquer sinergia com outros hidrocolóides, a combinação destes, pode influenciar negativamente a resistência do gel da pectina. Por conseguinte, há poucas interações comercialmente interessantes entre a pectina e outros polímeros ou proteínas. Entre estes, destaca-se a mistura de pectina-alginato que forma géis fortes, na presença de pectina com alta metoxilação, na combinação de alginatos com alto teor de ácido poligulurónico. No entanto, o pH deve ser inferior a 4, pois para valores de pH elevados não há formação do gel (Brejnholt, 2010). Considerando que são necessários valores de pH baixos e elevada concentração de sólidos solúveis para a gelificação das pectinas de alta metoxilação, podem ser obtidos géis a partir de misturas de pectina baixa metoxilação e alginato, em grande parte independentes do teor de sólidos solúveis e do pH. A interação entre a pectina e o alginato pode ser particularmente interessante na obtenção de géis termorreversíveis e na para obtenção de produtos com baixo teor calórico. As propriedades mecânicas deste tipo de géis dependem do tipo de pectina, do alginato, do grau de esterificação da pectina e da proporção do alginato utilizado (Silva e Rao, 2006).

A interação entre a pectina e o alginato tende a formar películas fortes, mas com fraca resistência à água, devido à sua natureza hidrofílica. A capacidade para formar géis fortes e insolúveis com catiões divalentes pode ser utilizado para melhorar este problema. Pode-se utilizar o cloreto de cálcio como agente de reticulação de forma a melhorar a formação do revestimento do gel de alginato (Silva *et al.*, 2009).

2.4 Gelificação interna e encapsulação

No processo de gelificação interna, o cálcio é libertado de forma homogénea, sob condições controladas no interior da solução de alginato. Este processo utiliza uma combinação de alginato, um sal de cálcio o qual se dissolve lentamente, e um agente sequestrante de cálcio. O sulfato de cálcio o mais utilizado, uma vez que tem um custo baixo e uma boa solubilidade. A gelificação interna pode também ocorrer tanto a pH

neutro ou ácido (Figura 9), através da adição de um ácido, o que vai proporcionar um aumento da solubilidade dos sais de cálcio (Helgerud *et al.*, 2010).

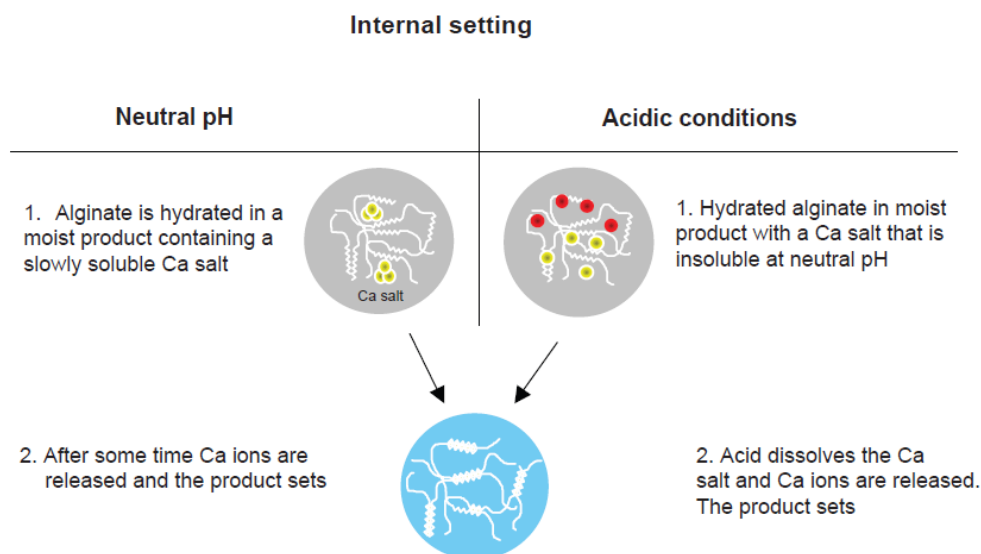


Figura 9 - Gelificação interna do alginato (Helgerud *et al.* 2010).

Nesta técnica os ingredientes são misturados com o alginato e a fonte de cálcio a um pH neutro, e a libertação de cálcio é conseguida pela acidificação com ácido cítrico, ou outro ácido adequado (Helgerud *et al.*, 2010).

A encapsulação pode ser definida como um processo para reter uma substância (compostos ativos), dentro de outra substância. A substância encapsulada, com exceção do agente ativo, pode ser chamada de material central, preenchimento ou fase interna, enquanto a substância que está a encapsular pode ser chamada de membrana, revestimento, fase externa ou matriz. O processo de encapsulação é aplicado na indústria alimentar, com vários fins, e é definido como uma tecnologia de embalagem de sólidos, líquidos ou gasosos, em pequenas cápsulas (Nedovic *et al.*, 2011).

2.4.1 Aplicação da técnica de encapsulação na indústria alimentar

Alguns exemplos de aplicação da encapsulação na indústria alimentar, é a encapsulação de agentes aromatizantes, de óleos de aroma, que podem ser obtidos através da extrusão ou do gotejamento de uma mistura de alginato e óleo (aroma) numa solução

contendo sais de cálcio, ou então através de um bocal de duplo tubo, onde o material encapsulado é retido no interior do tubo, enquanto a solução de alginato é repelida através do tubo exterior (Figura 10) (Helgerud *et al.*, 2010).

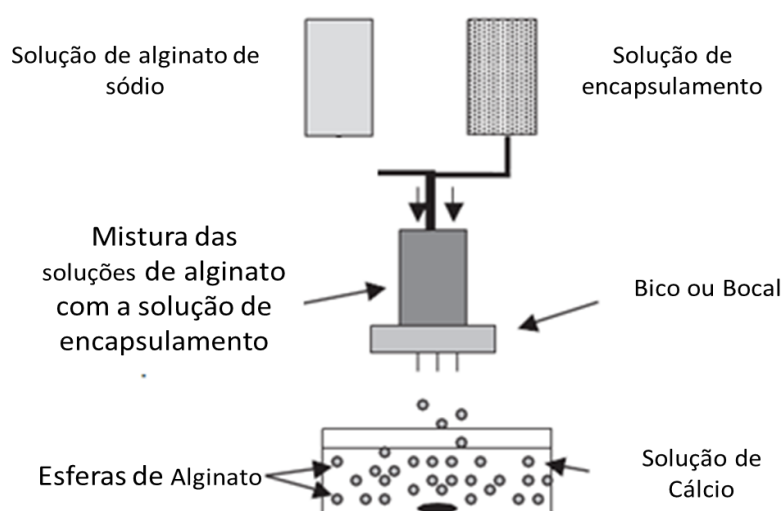


Figura 10 - Equipamento para encapsulação de um líquido ou suspensão com alginato. Adaptado de Helgerud *et al.* (2010).

A utilização desta técnica na gastronomia molecular constitui um nicho de mercado, mas que se encontra em crescimento. Exemplos de aplicação são o caviar e ovos de peixe, como esferas de alginato (Helgerud *et al.*, 2010) (Figura 11 e 12).

A utilização de alginatos com a capacidade de produção de géis, na gastronomia molecular, levou ao aparecimento da técnica chamada de esferificação, a qual pode ser: esferificação direta ou esferificação inversa. A esferificação direta ou básica resulta da adição de uma solução com alginato, adicionada por gotejamento a uma solução de cloreto de cálcio, que rapidamente dissocia-se, devido à sua capacidade de solubilidade (Lee e Rogers, 2013). O contacto do alginato com a solução com cálcio resulta na produção de pequenas esferas (Figura 11), com textura semelhante ao caviar (com uma



Figura 11 - Pequenas esferas resultantes da esferificação direta (Moura *et al.* 2011).

capa de gel exterior e o centro líquido) (Moura *et al.*, 2011). O principal problema desta técnica é que, quando a esfera é removida do banho de cálcio, o processo de gelificação continua mesmo após a lavagem das esferas com água, isto significa que as esferas precisam de ser consumidas imediatamente ou caso contrário rapidamente se converterm em esferas de gel compacto sem líquido. Outro problema associado a esta técnica é que a gelificação não ocorre se a acidez do líquido for elevada ($\text{pH} < 3,6$). No entanto, este problema pode ser ultrapassado através da adição de citrato de sódio ao líquido, de forma a reduzir a sua acidez antes do processo de gelificação (Anónimo 3, 2014).

Na esferificação inversa a mistura com cálcio é adicionada ao preparado e é gotejada para uma solução de alginato. Esta técnica, ao contrário da anterior produz esferas de dimensões superiores, com uma membrana mais espessa, com o interior líquido, e o processo de gelificação é interrompido quando as esferas são removidas do banho e são lavadas com água (Figura 12) (Anónimo 3, 2014).



Figura 12 - Produto resultante da esferificação inversa (Moura et al. 2011)

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Neste capítulo encontram-se descritos, os ensaios realizados as matérias-primas utilizadas, o processo produtivo das esferas “Bubbles” os procedimentos das técnicas analíticas realizadas para a avaliação do pH, °Brix, viscosidade, textura e análise sensorial. Faz-se ainda a distinção entre os ensaios experimentais preliminares e finais realizados ao longo deste trabalho.

3.1 Matérias-primas

Para a produção de esferas utilizou-se um preparado constituído por, água, sacarose, cloreto de cálcio, goma xantana, goma guar, corante, sorbato de potássio, ácido cítrico e aroma e um banho de esferificação constituído por água, alginato, pectina e sacarose. Estas matérias-primas encontram-se descritas na Tabela 2.

Tabela 2- Matérias-primas utilizadas.

Matéria-Prima	Fornecedor	Origem
Sacarose	RAR	Portugal
Ácido Cítrico (E330)	Yixing-Union Biochemical CO., LTD	China
Alginato de Sódio (E401)	FCM BioPolymer	EUA
Amido Modificado de Milho (E1442)	Ingredion	EUA
Aroma	Expressions aromatiques	França
Corante	Chr. Hansen	Dinamarca
Cloreto de cálcio (E509)	Solvay	Itália
Sorbato de Potássio (E202)	Jinneng Science and technology CO.,LTD.	China
Goma Guar (E412)	SEAH International	
Goma Xantana (E415)	Neimenggu Fufeng Biotechnologies CO., LTD.	
Pectina (E440II)	Herbstreith e Fox	Alemanha

3.2 Descrição do processo produtivo

Na Figura 13 é possível observar o fluxograma do processo produtivo para a produção de esferas com centro líquido, da solução do preparado e da solução do banho de esferificação (Bubble).

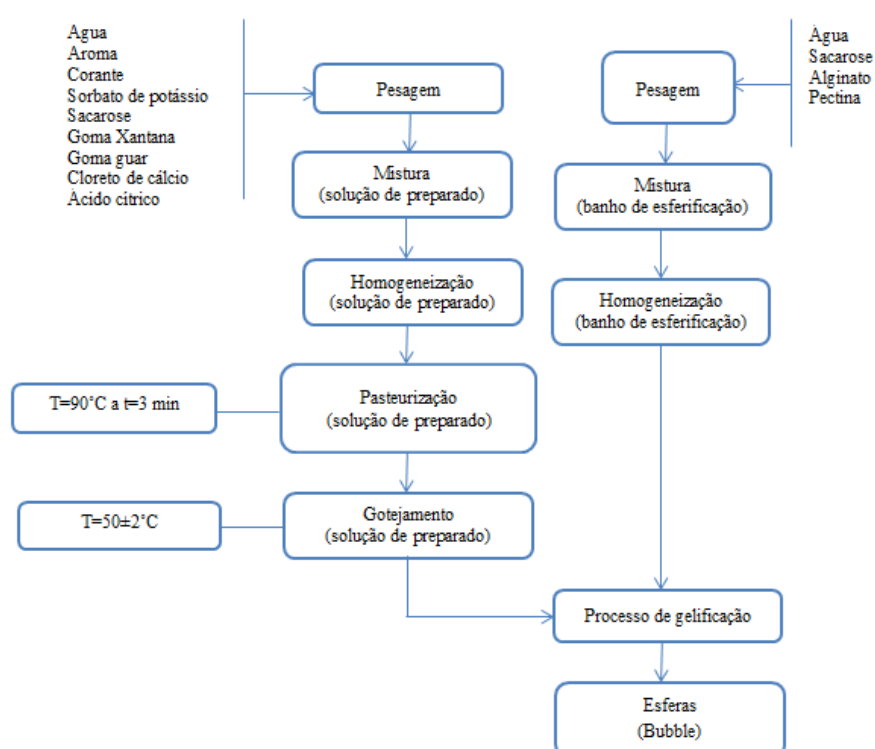


Figura 13 - Fluxograma do processo produtivo da produção de esferas com centro líquido.

Numa primeira fase de produção da solução de preparado procedeu-se à pesagem das matérias-primas, de seguida, fez-se uma pré-homogeneização destas adicionando a sacarose aos hidrocolóides, de forma a estes dispersarem melhor. Posteriormente dissolvem-se o ácido cítrico, o corante e o cloreto de cálcio em água. Após esta etapa juntaram-se todas as matérias-primas e fez-se a homogeneização. De seguida pasteurizou-se a solução do preparado a uma temperatura de 90°C durante 3 minutos.

Relativamente ao banho de esferificação, adicionou-se a sacarose com o mesmo efeito de dispersar as gomas, depois adiciona-se a água para a sua dissolução. Após a

pasteurização da solução do preparado e do banho de esferificação pronto, procede-se então ao gotejamento. O preparado é gotejado a uma temperatura de $58\pm 2^{\circ}\text{C}$, a uma distância de 25 cm (altura) para o banho de esferificação, o qual está a uma temperatura de $54\pm 4^{\circ}\text{C}$. De seguida as esferas ficam em contacto com o banho de esferificação durante 3-5 min, em agitação constante (placa com agitação magnética) para que as esferas não se depositem no fundo e nem se aglomerem umas às outras. Posteriormente as esferas são lavadas em água corrente de forma a retirar os resíduos de alginato e pectina que ainda possam conter.

Para a execução deste processo utilizou-se um suporte metálico ajustável em altura, no qual é possível instalar um recipiente cilíndrico com pontas metálicas, onde se vai colocando a solução de preparado pouco a pouco. O excesso de preparado no recipiente vai provocar entupimento das pontas, provocando um aumento da pressão, conduzindo ao aumento de fluxo do preparado, o que torna necessário novo aquecimento do preparado para obter a temperatura desejada.

Ao longo do trabalho foram estudadas diferentes temperaturas de solução de preparado, do banho de esferificação e ainda a composição do banho de esferificação, mantendo sempre a mesma temperatura de pasteurização (90°C , 3 minutos) e o mesmo procedimento para a técnica de gelificação, para desta forma obter esferas redondas.

As esferas foram colocadas numa calda de conservação (xarope), com as mesmas características das esferas, ou seja com igual pH e °Brix sendo de seguida acondicionadas numa câmara de conservação a 3°C .

3.3 Ensaios experimentais preliminares

Numa primeira fase foram realizados ensaios preliminares, de forma a otimizar a formulação de base, para posterior realização dos ensaios experimentais finais. Tanto nos ensaios preliminares como nos ensaios finais procedeu-se de acordo com o fluxograma da Figura 13, para obtenção do produto final. Os parâmetros avaliados pH, °Brix e viscosidade nestes ensaios preliminares foram medidos a uma temperatura de $58\pm 2^{\circ}\text{C}$. A temperatura do banho de esferificação nestas experiências foi de $54\pm 4^{\circ}\text{C}$. Nesta primeira

parte do trabalho, e de forma a otimizar a formulação de base, estudou-se na solução de preparado o efeito da:

- 1) Concentração de amido de milho
- 2) Concentração de sacarose.

Nestes ensaios a composição do banho de esferificação continha 75,2% de água, 24% de sacarose e 0,8% de alginato.

3.3.1 Efeito da concentração de amido milho

Inicialmente estudou-se o efeito da concentração de amido em sinergia com a goma xantana. Foram avaliadas diferentes percentagens de amido de milho 1,5%, 2,0%, 2,5% e 3,0%, mantendo constante a percentagem de goma xantana e de sacarose (Tabela 3).

Tabela 3 – Composição de sacarose, amido e goma xantana nos ensaios realizados.

Ensaio	I	II	III	IV
Sacarose	32%	32%	32%	32%
Amido	1,5%	2,0%	2,5%	3,0%
Goma xantana	0,4%	0,4%	0,4%	0,4%

Nota: As restantes matérias-primas mantiveram-se constantes (0,07 % de aroma, 0,08% de ácido cítrico, 0,10% de sorbato de potássio, 0,18% corante, 1,20% de cloreto de cálcio, excetuando a água que varia consoante as percentagens utilizadas).

3.3.2 Efeito da concentração de sacarose

A influencia da concentração de sacarose na solução de preparado, foi outro dos aspetos estudados. As concentrações de sacarose estudadas foram 15%, 32%, 45% e 64%, mantendo constante a percentagem de goma guar e goma xantana (Tabela 4).

De referir que as concentrações de hidrocolóides utilizados foram otimizadas num trabalho anteriormente desenvolvido na Frulact.

Tabela 4 - Composição de sacarose, goma xantana e goma guar nos diferentes ensaios realizados.

Ensaio	I	II	III	IV
Sacarose	15%	32%	45%	64%
Goma xantana	0,57%	0,57%	0,57%	0,57%
Goma guar	0,43%	0,43%	0,43%	0,43%

Após análise dos resultados selecionou-se a formulação da experiência com: 0,57% de goma xantana, 0,43% de goma guar e 32% de sacarose (ensaio II), como sendo a base ideal para prosseguir com os estudos.

3.4 Ensaios experimentais finais

Após a realização e análise dos resultados dos ensaios experimentais preliminares foi selecionada a formulação base completa, que se encontra descrita na Tabela 5. Nesta fase optou-se ainda por reduzir a quantidade de sacarose, como forma de diminuição dos riscos para saúde obtendo um produto com menor teor de açúcar. Nos ensaios experimentais preliminares, o estudo em questão era a influência da sacarose e do amido, deste modo não foi adicionado qualquer tipo de regulador de acidez. Pelo contrário, nos ensaios experimentais finais adicionou-se um regulador de acidez, de forma acentuar o processo de conservação das esferas ajudando a reduzir a carga microbiológica que possa existir. De forma a estar de acordo com os requisitos de aceitabilidade do produto este deve ter um pH ácido (3,80 a 4,50).

Nestes ensaios pretende-se estudar:

- 1) O efeito da temperatura da solução de preparado;
- 2) O efeito da temperatura da solução de banho esferificação;
- 3) O efeito da concentração de alginato e pectina da solução de banho de esferificação.

Tabela 5 – Composição da solução de preparado utilizada nos ensaios para produção de esferas (bubble).

Matéria-prima	% (p/p)
Água	69,37
Sacarose**	28,00
Cloreto de cálcio	1,20
Goma xantana	0,57
Goma guar	0,43
Corante*	0,18
Sorbato de potássio	0,10
Ácido cítrico	0,08
Aroma	0,07

*Por motivo de sigilo profissional não é possível revelar o corante utilizado. ** A empresa decidiu diminuir as concentrações de sacarose de 32% para 28% por questões nutricionais.

3.4.1 Efeito da temperatura da solução do preparado

Estes ensaios consistiram em estudar o efeito da temperatura do preparado na eficácia da formação de esferas. Utilizou-se a formulação da solução de preparado da Tabela 5. As temperaturas estudadas foram 35°C, 45°C, 50°C e 75°C. O preparado foi gotejado para um banho de esferificação (0,75% pectina, 0,6% de alginato, 24% sacarose e 74,5%), a uma temperatura entre 22°C e 29°C. As esferas formadas foram avaliadas através das respectivas medições das esferas com uma régua graduada.

3.4.2 Efeito da temperatura da solução do banho de esferificação

Neste estudo estudou-se o efeito da temperatura do banho de esferificação (0,75% pectina e 0,6% alginato, 24% de sacarose e 74,5%), mantendo a temperatura do preparado a 50±2 °C. As temperaturas do banho estudadas foram: 27°C, 50°C e 70°C. Determinou-se a firmeza das esferas antes da pasteurização e após a pasteurização.

3.4.3 Efeito da composição (alginato e pectina) do banho de esferificação

Neste estudo avaliou-se o efeito da concentração de alginato e de pectina no banho de esferificação (Tabela 6.). Avaliou-se a resistência à pasteurização, a firmeza e o peso da película das esferas. Para obter a película das esferas foi necessário, rebentar a esfera de forma a remover o seu interior, pesando apenas a película.

As esferas resultantes dos ensaios II e III foram avaliadas ao longo de 28 dias, em armazenamento em frascos numa câmara de refrigeração a 3°C. Os parâmetros estudados foram o peso, o pH, o °Brix e a firmeza.

Tabela 6 – Composição do banho de esferificação dos diferentes ensaios realizados.

	I	II	III	IV	V
Matéria-prima					
Água	74,85	74,65	74,80	75,20	74,50
Sacarose	24,0	24,0	24,0	24,0	24,0
Pectina	0,75	0,75	0,60	-	1,5
Alginato	0,40	0,60	0,60	0,80	-

3.4.4 Estudo da estabilidade das esferas em preparado/iogurte ao longo do tempo

Após selecionada a melhor combinação, ensaio III da Tabela 6, procedeu-se ao estudo da incorporação das esferas numa matriz alimentar. A matriz selecionada foi o iogurte. Na Tabela 7 encontra-se esquematizada a amostragem da experiência realizada.

Escolheu-se o iogurte natural açúcarado a 8%, como produto a testar as esferas. As esferas previamente misturadas com o iogurte, ao longo de 60 dias. Também se avaliou a estabilidade das esferas em xarope (calda de conservação) e no preparado aromatizado como ensaios controlo.

Tabela 7 - Representação da calendarização da experiência.

Ensaio	Tempo de amostragem	Análises
Controlo com xarope	2dias (t0+2) e 30 dias (t1)	
Controlo com solução de preparado	2dias (t0+2) e 30 dias (t1)	
Preparado aromatizado + iogurte 1	2 dias (t0+2), 10 dias (t0+10) e 21 dias (t0+21)	pH (n=3), °Brix (n=3), Firmeza (n=15)
Preparado aromatizado + iogurte 2	2 dias (t1+2), 10 dias (t1+10) e 21 dias (t1+21)	

Nota: n- número de réplicas efetuadas.

Após a produção das esferas, estas foram acondicionadas numa calda de conservação (0,08% de ácido cítrico, 0,10% de sorbato de potássio, 25% de sacarose e 74,82% de água), durante 60 dias a 3°C. Este ensaio foi também estudado como controlo (controlo da calda).

No dia seguinte à produção das esferas retiraram-se as esferas da calda de conservação e foram introduzidas num preparado aromatizado (Tabela 8), este preparado foi previamente pasteurizado a 90°C durante 3 minutos. As esferas foram acondicionadas neste preparado com o objetivo de impedir o seu encolhimento quando aplicadas na matriz alimentar e foram armazenadas a 3°C. Este ensaio foi também utilizado como controlo (controlo com solução de preparado). Posteriormente misturou-se o preparado aromatizado com o iogurte, numa porção de 1:1. Este produto foi avaliado durante 21 dias (designado de iogurte 1). Ainda se realizou outro ensaio (designado de iogurte 2) o qual foi obtido através da mistura da solução do preparado aromatizado armazenado durante 30 dias a 3°C.

Tabela 8 - Formulação utilizada para produção do preparado aromatizado.

Matéria-prima	%(p/p)
Bubbles	50,00
Água	28,15
Sacarose	20,0
Amido	0,90
Aroma	0,40
Goma Xantana	0,35
Sorbato de potássio	0,10
Ácido cítrico	0,10

3.5 Métodos Analíticos

Neste subcapítulo encontram-se descritos os métodos analíticos utilizados nos diversos ensaios experimentais, assim como os procedimentos seguidos na preparação das amostras para análise. Os equipamentos utilizados encontram-se em anexo (Apêndice I)

3.5.1 Determinação do pH

a) Preparação da solução do preparado para a determinação do pH

Após a preparação da solução de preparado, esta é arrefecida até à temperatura de 58°C e nos ensaios experimentais finais à temperatura de 50°C. De seguida foi feita a sua leitura e o registo.

b) Preparação das esferas para a determinação do pH

Depois de obtidas as esferas, estas são trituradas com ajuda de um equipamento de homogeneização. A análise é realizada à temperatura ambiente de $20\pm 2^\circ\text{C}$.

c) Preparação do xarope para a determinação do pH

Após a produção as esferas, estas são acondicionadas no xarope à temperatura de 3°C em câmara de refrigeração. A leitura do pH faz-se após a amostra retirada da refrigeração, 3 °C, atingir a temperatura ambiente de $20\pm 2^\circ\text{C}$.

d) Determinação do pH

Na determinação do pH utilizou-se o potenciómetro Consort C860 (consorte bvba, Bélgica), com calibração em três pontos pH (1,68, 4,00, 7,00). De seguida procedeu-se à leitura colocando o elétrodo no centro da amostra. Os valores são retirados através de leitura direta. Realizaram-se 3 réplicas por amostra.

3.5.2 Determinação do teor de sólidos solúveis (°Brix)

a) Preparação do preparado para a determinação do °Brix

Após a preparação da solução de preparado, esta é arrefecida até à temperatura de 58°C, e nos ensaios experimentais finais à temperatura de 50°C. De seguida foi feita a sua leitura e o registo.

b) Preparação das esferas para a determinação do °Brix

Depois de obtidas as esferas, estas são trituradas com ajuda de um equipamento de homogeneização. A análise é realizada à temperatura ambiente de $20 \pm 2^\circ\text{C}$.

c) Preparação do xarope para determinação do °Brix

Após a respectiva produção as esferas são acondicionadas no xarope (temperatura de 3°C), e a partir deste é retirada uma amostra, a qual após atingir a temperatura ambiente realiza-se a leitura do °Brix.

d) Determinação do teor de sólidos solúveis (°Brix)

Na determinação do °Brix utiliza-se em refratómetro (Bellingham e Stanley, Reino Unido). O equipamento foi previamente calibrado com água destilada (0,0 °Brix) e com uma solução aquosa de 40 °Brix, os valores foram registados através de leitura direta. Foram analisadas 3 réplicas por amostra.

3.5.3 Determinação da viscosidade

a) Preparação do preparado para a determinação da viscosidade

Após a preparação da solução de preparado, esta é arrefecida até à temperatura de 58°C, e nos ensaios experimentais finais à temperatura de 50°C. De seguida foi feita a sua leitura e o registo.

b) Determinação da viscosidade

A viscosidade foi determinada a partir do viscosímetro de Bostwick (CSC Scientific, Estados Unidos). Este equipamento determina a viscosidade aparente dos produtos alimentares, utiliza-se num intervalo de tempo de 60 segundos, de forma a medir a distância em cm que o preparado demora a percorrer 0,5 cm numa régua graduada. Foram realizadas 3 réplicas por amostra.

3.5.4 Determinação da Massa e das películas

Após atingir a temperatura ambiente de $20\pm 2^{\circ}\text{C}$, pesaram-se, 3 réplicas de conjunto de 5 esferas. No caso das películas as esferas foram rebentadas, de forma a remover o seu interior e de seguida, são pesadas as películas. Pesaram-se 3 réplicas de conjunto de 5 esferas.

As esferas e as películas foram pesadas numa balança analítica – (Kern Sohm & Gmbh, Germany).

3.5.5 Textura (análise instrumental)

A) Descrição do método

Um dos parâmetros importantes para melhor compreender o comportamento das esferas é a análise da textura. A textura é dos principais atributos utilizados na indústria alimentar, de forma a avaliar a qualidade do produto e a sua aceitabilidade. Tem sido definida como todos os atributos geométricos, reológicos e estruturais do produto através das propriedades mecânicas (Chen e Opara, 2013).

Para avaliação da textura recorreu-se a um texturómetro (Texturómetro TA.XT - Stable Micro Systems), em que o teste utilizado foi o teste de compressão. A distância de compressão foi de 5mm com uma velocidade de ensaio de 1,5mm/s. Depois do equipamento devidamente calibrado foram escolhidas as condições do teste, tendo-se utilizado uma placa de compressão de 75mm (sonda P/75). De seguida selecionou-se o software indicado para esta análise, calibrou-se o aparelho colocando um peso padrão de

2kg no equipamento e calibrou-se a sonda. Em simultâneo, seleccionaram-se as esferas efetuando-se a compressão da amostra em vários ensaios (15 réplicas). Terminada a experiência, retiraram-se os dados obtidos para posterior cálculo da força máxima. Na Figura 14 é possível observar um perfil de textura típico da análise às esferas.

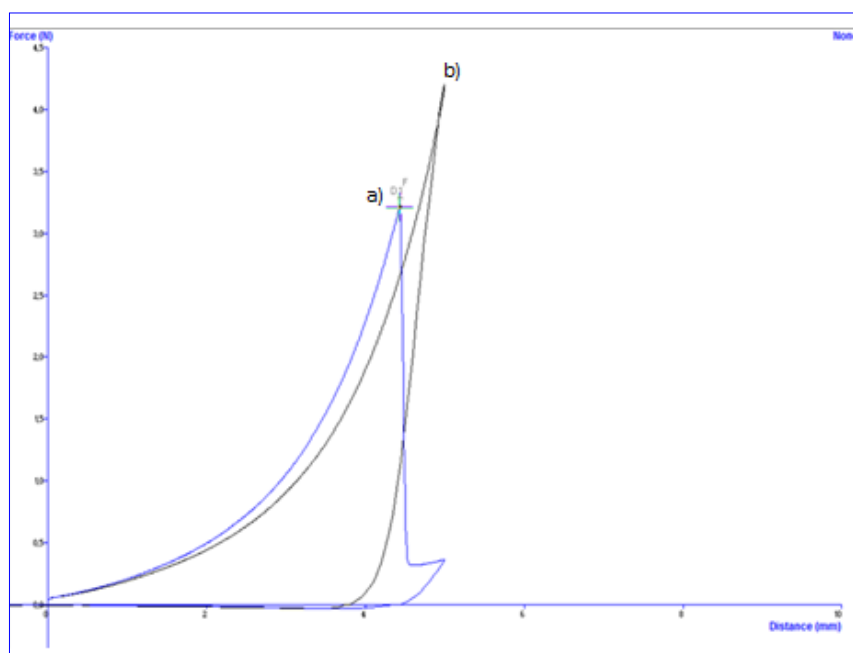


Figura 14 - Perfil das esferas após pasteurização: a) com rebentamento das esferas e b) sem rebentamento das esferas.

B) Preparação das esferas para determinação da textura

Após o gotejamento das esferas estas são colocadas numa calda de conservação, com igual pH e °Brix das esferas e acondicionadas na refrigeração. No dia seguinte são pasteurizadas e 24 horas após à sua pasteurização são analisadas, esfera a esfera.

3.5.6 Análise Sensorial

De forma a seleccionar sensorialmente realizou-se uma prova de análise sensorial. As esferas resultam da combinação de uma formulação de preparado, que se mantém mais ou menos líquido no interior da esfera, e de um banho de esferificação cuja formulação influencia a espessura e a firmeza da película. As esferas obtidas nos ensaios experimentais finais (Tabela 6) foram submetidas a uma prova de análise sensorial.

Utilizou-se um painel de 26 provadores não treinados com uma escala continua, em que os parâmetros avaliados foram: “aparência geral”, “dureza”, “sente-se a película” e “desfaz-se na boca”, numa escala de “não gosto” a “gosto” e “pouco” a “muito” (Figura 15). Foram apresentadas aos provadores as amostras diferentes com as quatro combinações de alginato-pectina, codificados por uma sequência de 3 números aleatórios, em que todas as amostras eram diferentes entre elas.

Nome Proveedor: _____	
Data: __/__/__	
<p>1) Classifique cada amostra (#872, #530, #265, #135) em relação a cada atributo, de acordo com a sua preferência. Coloque uma linha vertical com o código de cada amostra para representar a sua avaliação na seguinte escala não estruturada.</p>	
APARÊNCIA GERAL	
Não gosto	Gosto
Dureza	
Pouco	Muito
Desfaz-se na boca	
Pouco	Muito
Sente-se a película	
Pouco	Muito
<p>2) Observações:</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p>	
Obrigada pela sua colaboração!	

Figura 15 - Ficha de prova utilizada no teste de análise sensorial.

3.5.7 Análise Estatística

Os resultados obtidos foram submetidos, a uma análise de variância fator único (ANOVA), com o objetivo de testar a igualdade de duas ou mais médias das amostras e a avaliar qual o seu contributo na variação dos dados. Após concluir que existia diferenças entre amostras, pretende-se avaliar quais as diferenças, utilizando o teste Tukey HSD, como teste de separação de médias para níveis de significância $\alpha < 0.05$, de forma avaliar quais as diferenças existentes entre médias, o software estatístico utilizado foi STATISTICA 7 (StatSoft, Inc, USA).

As letras diferentes correspondem as médias estatisticamente diferentes e as letras iguais indicam médias estatisticamente iguais. Esta informação é apresentada nas figuras analisadas estatisticamente.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Ensaios experimentais preliminares

O objetivo do trabalho, nesta primeira fase, foi avaliar qual a influência da concentração da sacarose e do amido de milho nas características morfológicas das esferas. De seguida são apresentados e discutidos os resultados obtidos após o procedimento experimental.

4.1.1 Efeito da concentração do amido de milho

O efeito da percentagem de amido na esfericidade das (bubble) foi avaliado utilizando uma formulação com percentagens de amido de 1,5%, 2,0%, 2,5% e 3,0%, mantendo constante a percentagem de sacarose (32%) e de goma xantana (0,4%).

Através da Figura 16, verifica-se que a formulação com 3% de amido de milho foi aquela que apresentou uma melhor esfericidade [Figura 16 a)]. Pelo contrário as esferas com 2% e 2,5% de amido apresentam uma forma irregular e achatada.

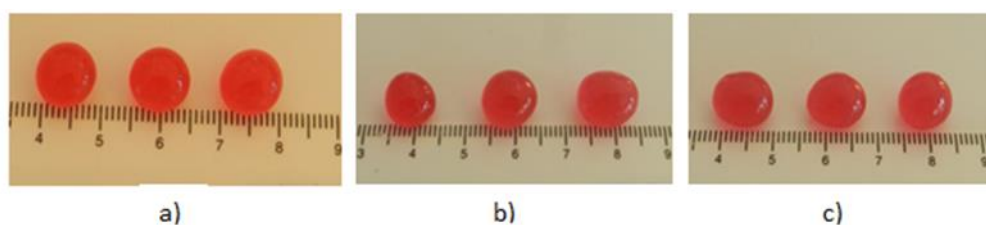


Figura 16 - Esferas com diferentes percentagens de amido: a) 3,0%, b) 2,5% e c) 2,0%.

Na Tabela 9 encontram-se os resultados do pH, °Brix e viscosidade obtidos na experiência. Relativamente ao °Brix verifica-se que quanto maior a concentração de amido maior é a percentagem de teor de sólidos solúveis. Pelo contrário, o valor de pH, evolui de forma oposta, isto é, quanto maior a percentagem de amido menor é o valor de pH. Este comportamento pode estar relacionado com os iões H^+ da molécula de amido em solução, que vão estar mais disponíveis para reagir, logo haverá uma diminuição de pH.

A viscosidade ótima para este tipo de preparados deve estar entre 6 a 8 (cm/60s). A concentração de amido de 1,5% não permitiu a formação de esferas, pois a viscosidade foi de 16 (cm/60s) e, como se pode verificar através da Tabela 9, quanto menor é a percentagem de amido menor é a sua viscosidade.

Tabela 9 – Resultados obtidos das combinações de amido com goma xantana (valores médios \pm desvio padrão de 3 repetições).

Parâmetros\ Amido de milho (%)	I 1,5	II 2,0	III 2,5	IV 3,0
°Brix	34,73 \pm 0,25	35,57 \pm 0,42	37,37 \pm 0,23	37,73 \pm 0,25
pH	6,82 \pm 0,021	6,45 \pm 0,032	6,19 \pm 0,017	6,16 \pm 0,020
Viscosidade (cm/60s)	16,33 \pm 0,14	9,42 \pm 0,14	7,75 \pm 0,25	5,92 \pm 0,25
Formação de esferas	Não	Sim	Sim	Sim

Os resultados de firmeza (força de compressão) das esferas obtidos nos ensaios com diferentes concentrações de amido antes e depois da pasteurização encontram-se na Figura 17. Verifica-se que antes da pasteurização, as esferas com 3,0% de amido foram as que apresentaram uma maior força de compressão ($p>0,05$) enquanto que com 2,0% apresentaram menor firmeza ($p<0,05$). Após a pasteurização, as esferas com um teor de amido de 2,5% apresentam maior firmeza ($p>0,05$) e com 2,0% de amido menor firmeza ($p<0,05$).

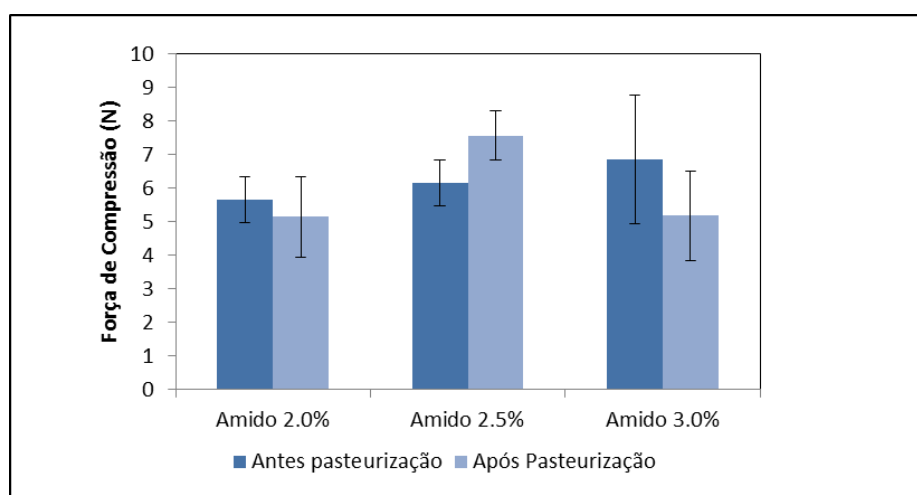


Figura 17 - Efeito da concentração de amido na firmeza das esferas, com respetiva média \pm desvio padrão.

Pode-se concluir que a solução de preparado com 2,0% de amido apresenta uma melhor estabilidade pois é aquele que não mostrou diferenças significativas antes e após a pasteurização ($p>0.05$). A concentração de amido influenciou a permeabilidade da película, pois observou-se que quanto maior a percentagem de amido maior foi a perda de cor das esferas para o exterior (dados não apresentados), o que pode provocar uma diminuição da resistência das mesmas. Este comportamento pode também estar relacionado com a gelificação na qual as moléculas de água estão aprisionados pela rede do gel de alginato através de ligações de hidrogénio, porém, ainda apresentam liberdade de migração por difusão (Helgerud *et al.*, 2010). Contudo se contrair a rede do gel, algumas moléculas de água irão ser expulsas isto pode explicar a perda de cor das esferas e a perda de resistência das mesmas.

No entanto, embora este ensaio apresente estabilidade, a formulação com 3,0% de amido conferiu elevada resistência às esferas (Figura 17) em conjunto com a esfericidade pretendida (Figura 16), e por isso considerou-se a experiência adequada dos objetivos.

4.1.2 Efeito da concentração de sacarose

Na Figura 18 e Tabela 10 é possível observar os resultados obtidos para o efeito da concentração de sacarose.

Verifica-se que o ensaio II (Figura 18 b) apresenta esferas mais redondas. Pelo contrário, nos restantes ensaios as esferas apresentam-se irregulares, ovaladas e achatadas. Testou-se ainda a substituição da sacarose por xarope, o que não foi uma boa hipótese pois os preparados ficavam com uma textura pegajosa e perdiam viscosidade, o que levava a uma perda de esfericidade (dados não apresentados).

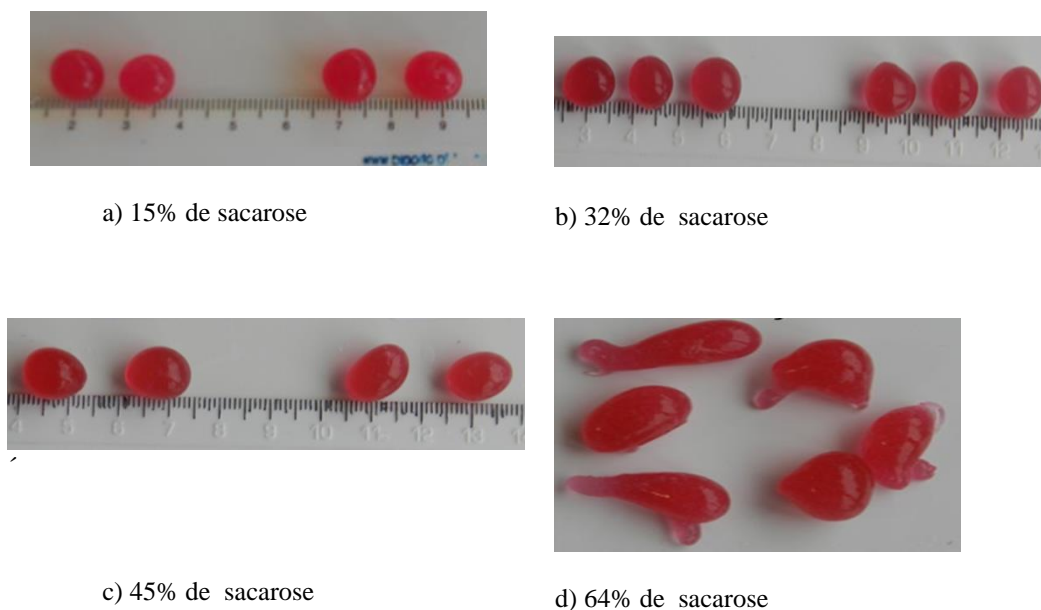


Figura 18 - Esferas com diferentes concentrações de sacarose a) 15%; b) 32%; c) 45% e d) 64%.

Relativamente à viscosidade (Tabela 10) pode-se verificar que existe um aumento de viscosidade com o aumento das concentrações de sacarose até 45%, mantendo-se estável nas percentagens de 32% e 45% (ensaios II e III). Estes resultados seguem a mesma tendência dos obtidos por Urlacher (1997), em que um aumento da concentração do açúcar proporcionou um aumento de viscosidade.

Tabela 10 – Efeito da concentração de sacarose nos valores de pH, °Brix, viscosidade e formação de esferas.

Parâmetros Sacarose	I 15%	II 32%	III 45%	IV 64%
°Brix*	18,30	35,40	49,30	65,80
pH*	6,41	6,50	5,74	5,50
Viscosidade (cm/60 s)*	11,25	10,25	10,25	11,50
Formação de esferas	Sim	Sim	Sim/Ovais	Não

*Estes valores não apresentam réplicas

No que diz respeito aos resultados do pH, verificou-se que quanto menor a concentração de sacarose, maior é o valor de pH. Este comportamento pode estar relacionado com a água disponível na solução do preparado, isto é quanto menor é a

concentração de açúcar mais água está disponível na solução do preparado logo mais iões OH^- estão disponíveis na solução para reagir, aumentando desta forma o valor de pH.

4.2 Ensaio experimentais finais

Encontrada a formulação, que permite a obtenção de bubbles esféricas com centro líquido, realizaram-se ensaios para avaliar o efeito da temperatura do preparado e do banho de esferificação, e da formulação do banho de esferificação nas características das esferas. Também se realizou uma prova de análise sensorial às esferas obtidas. Como ensaio final, as esferas foram incorporadas em iogurte e estudou-se a sua estabilidade ao longo de 60 dias.

4.2.1 Efeito da temperatura do preparado

Efetou-se um estudo do efeito da temperatura do preparado, 35°C, 45°C, 50°C e 75°C, nas características morfológicas das esferas (Figura 19).

Verifica-se que as soluções de preparado com temperaturas de 45°C e 50°C (Figura 19 b e c), originaram as esferas mais perfeitas quando comparadas com os restantes ensaios. A utilização de temperaturas elevadas proporciona o decréscimo de viscosidade, que por sua vez vai fazer com que o produto seja mais fluído e com um escoamento mais rápido. Consequentemente as altas temperaturas não proporcionam a viscosidade adequada para um bom gotejamento de forma obter esferas perfeitas. Segundo Urlarcher e Fox (1997), a interação entre a goma guar e a goma xantana proporciona um aumento da viscosidade, mas por outro lado este aumento de viscosidade pode ser afetado pelo aumento da temperatura que vai acelerar a hidrólise ácida dos hidrocolóides e como consequência ocorre uma diminuição da viscosidade.

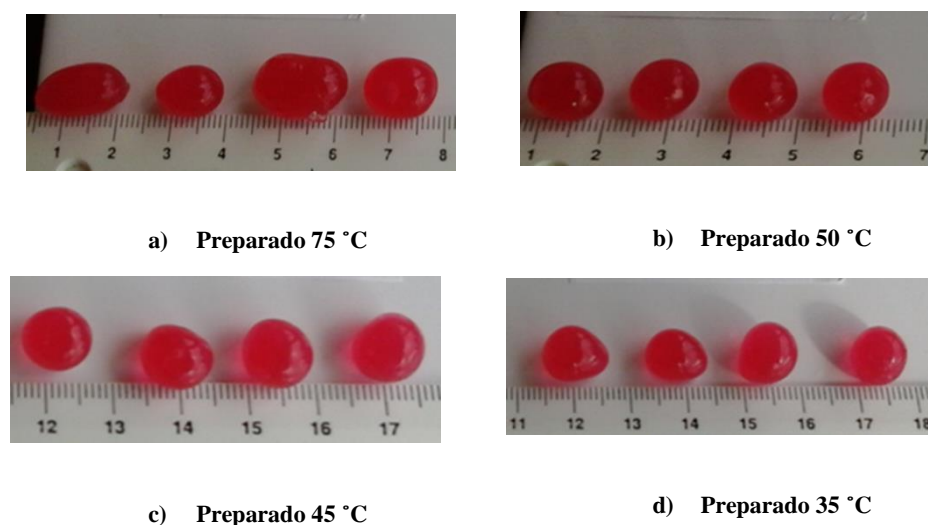


Figura 19 - Esferas após a gelificação com diferentes temperaturas da solução de preparado.

Após selecionada a temperatura do preparado procedeu-se ao estudo da temperatura do banho de esferificação. Neste conjunto de experiências estudaram-se três temperaturas: 27°C, 50°C e 70°C, mantendo a mesma temperatura do preparado ($50 \pm 2^\circ\text{C}$). Na avaliação do estudo da temperatura do banho de esferificação caracterizaram-se as esferas quanto à sua esfericidade (Figura 20) e firmeza (Figura 21).

Verifica-se que as temperaturas de 27°C e de 50°C proporcionam esferas mais redondas do que temperaturas 70°C.

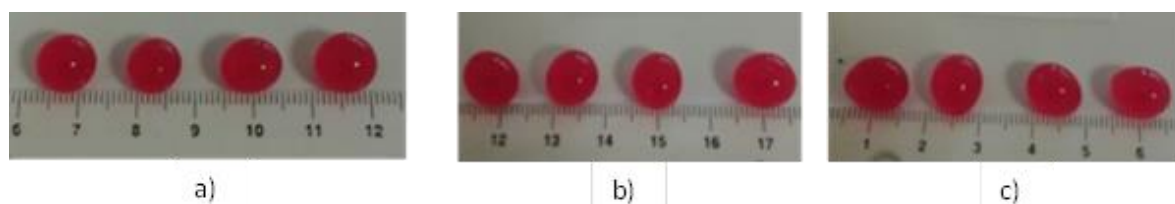


Figura 20 - Esferas obtidas de diferentes temperaturas do banho de esferificação: a) 27 °C, b) 50 °C e c) 70 °C.

Através da Figura 21 é possível verificar que para a temperatura de 50°C antes e após a pasteurização, as esferas apresentam uma força de compressão superior às restantes

($p>0,05$). Ao contrário, para a temperatura de 27°C verifica-se que as esferas apresentam uma menor força de compressão ($p>0,05$).

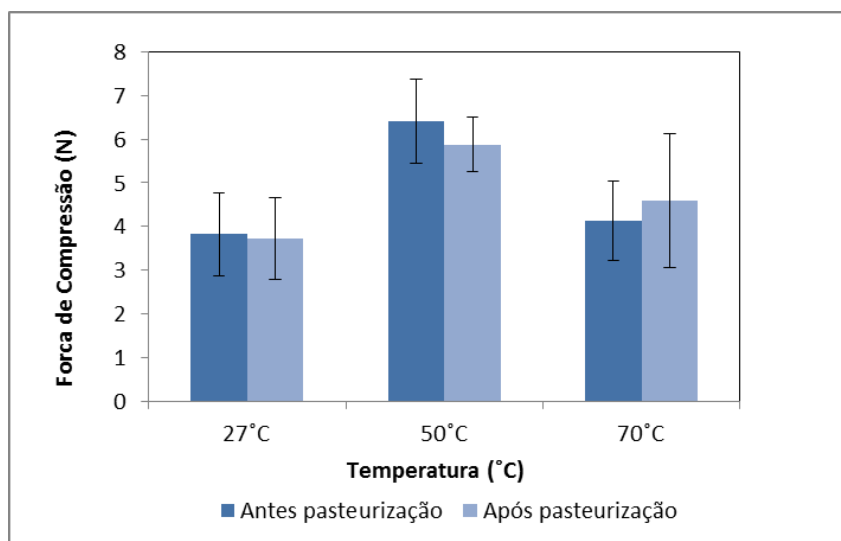


Figura 21 - Efeito da temperatura do banho de esferificação na firmeza das esferas, com respetiva média \pm desvio padrão de 15 repetições.

Quando se comparam os resultados obtidos antes e após pasteurização para as diferentes temperaturas verifica-se que há diferenças significativas ($p<0,05$). Uma vez que existe diferenças entre as temperaturas, foi necessário avaliar, quais as possíveis diferenças para tal utilizou-se o teste Tukey HSD ($p<0,05$). Os resultados desta análise encontram-se no Apêndice III.

Após análise estatística pode-se concluir que não existem diferenças significativas antes e após a pasteurização entre as temperaturas de 27°C e 70°C ($p>0,05$), pois são as temperaturas que apresentam uma força de compressão semelhante.

Enquanto a temperatura de 50°C, diferencia-se das restantes pois é aquela em que as esferas apresentam maior firmeza do produto, e é significativamente diferente das restantes ($p<0,05$). De um modo geral pode-se dizer que a temperatura mais adequada é a 50°C, pois apresenta valores de firmeza melhores e de esfericidade quando comparadas com as restantes temperaturas.

4.2.2 Efeito da composição (alginato e pectina) do banho de esferificação

O objetivo deste estudo foi avaliar a influência da composição do banho de esferificação, na formação de esferas. As esferas obtidas nestes ensaios foram caracterizadas relativamente à sua esfericidade e à sua firmeza, definindo-se como variável dependente a firmeza antes e após pasteurização e como fatores fixos as diferentes concentrações de alginato e pectina. Avaliou-se visualmente a esfericidade das esferas com ajuda de uma régua e por fim comparou-se o peso das películas, das diferentes concentrações de alginato e pectina (ensaios I,II,III,IV e V) e (Tabela 11).

Através da análise da Tabela 11 verifica-se que com a maior percentagem de pectina (1,5%) obteve-se maior teor de °Brix e o pH diminui consideravelmente. Relativamente ao alginato quanto maior a percentagem maior é o valor do pH.

Segundo Silva *et al.* (2009), a presença de pectina e alginato tende a formar películas fortes, mas com uma fraca resistência à água devido à sua natureza hidrofílica. A sua capacidade para formar géis fortes e insolúveis pode ser melhorada através do uso de cátions divalentes, podendo ser usado sais de cálcio para o revestimento de gel de alginato, classificado de cloreto de cálcio como agente de reticulação mais eficaz.

Quando a pectina e o alginato interagem entre eles, o pH destas tende a diminuir com o aumento da concentração de pectina. A pectina e o alginato são um grupo complexo de polissacarídeos carregados negativamente e acidificados que, ao interagir com o alginato vão provocar uma diminuição do pH, (troca iónica), baixando assim o valor de pH. Este comportamento pode ter influência na resistência das esferas, inibindo de um certo modo o alginato. Porém pode-se concluir que quanto maior a percentagem de pectina menor será o valor do pH.

Tabela 11 – Valores de pH e °Brix na combinação de alginato e pectina do banho de esferificação.

Ensaio	I	II	III	IV	V
Alginato	0,40%	0,60%	0,60%	0,80%	1,50%
Pectina	0,75%	0,75%	0,60%	-	-
°Brix**	ND	25,4	25,0	24,8	26,1
pH**	ND	5,12	5,31	7,50	4,49

ND- Não determinado. ** Valores só de uma leitura.

Na Figura 22 encontram-se os resultados obtidos da avaliação da esfericidade e tamanho das esferas nos diferentes ensaios realizados. Quando avaliadas esfericamente, as que apresentam uma melhor esfericidade são a 0,6% pectina/0,6% alginato e 0,8% de alginato (ensaio III e IV, respetivamente), pois são aquelas que se apresentam melhor esfericidade antes e após a pasteurização. Verifica-se ainda que as esferas com 0,4% de alginato/ 0,75% de pectina embora apresentem esfericidade antes da pasteurização, após a pasteurização perdem completamente a forma esférica que apresentavam.

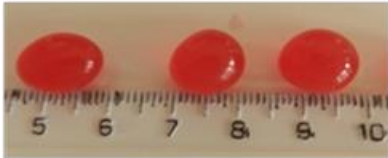


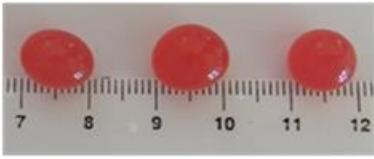






Visualização	
Antes pasteurização	Após pasteurização
  <p>Ensaio I (0,4% alginato/0,75% pectina)</p>	
  <p>Ensaio II (0,6% alginato/0,75% pectina)</p>	
  <p>Ensaio III (0,6% alginato/0,6% pectina)</p>	
  <p>Ensaio IV (0,8% alginato)</p>	
  <p>Ensaio V (1,5% pectina)</p>	

Figura 22 - Esferas obtidas a partir de diferentes composições de alginato e pectina no banho de esferificação.

Na Figura 23 é possível observar os resultados obtidos da análise de firmeza das esferas. Verifica-se que o ensaio com 0,8% de alginato apresenta maior firmeza ($5,43 \pm 0,88$ N) ($p > 0,05$), e o que apresenta menor firmeza é com 1,5% pectina ($2,02 \pm 0,73$ N) ($p < 0,05$). Pelo contrário, os restantes ensaios não apresentam diferenças significativas ($p > 0,05$). No entanto, quando se compara o efeito da pasteurização na firmeza, para todos os ensaios verifica-se que não existe diferenças significativas entre elas ($p > 0,05$),

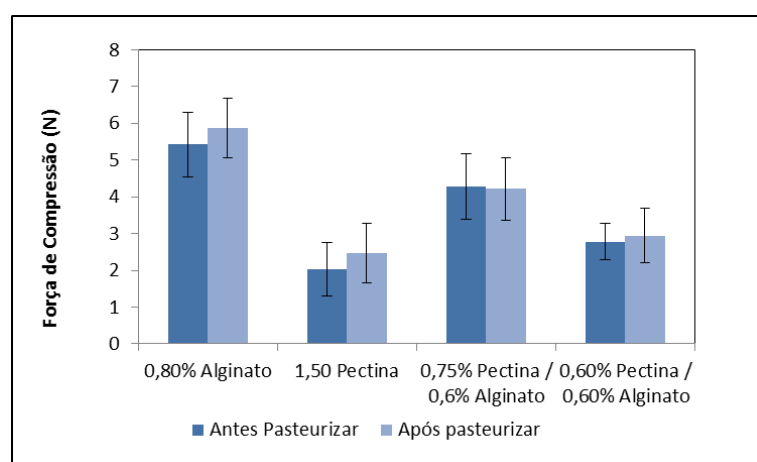


Figura 23 - Efeito das diferentes concentrações de alginato e pectina na firmeza das esferas, com respetiva média \pm desvio padrão de 15 réplicas.

Analisando estatisticamente se existe diferenças na firmeza das esferas antes da pasteurização nas diferentes concentrações de pectina e alginato, estatisticamente há diferenças ($p < 0,05$), entre as várias amostras. Quando estas são avaliadas após pasteurização, estatisticamente existe diferenças significativas ($p < 0,05$), exceto nas percentagens de 0,60% pectina/0,60% alginato com 1,5% pectina não existe diferenças ($p > 0,05$), como é possível verificar no gráfico (Figura 23), pois são aqueles que apresentam valores de firmeza próximos.

Estes resultados revelam que as esferas com maior concentração de alginato apresentam maior resistência à compressão comparativamente com as esferas com concentrações menores e com outras percentagens de pectina ($p < 0,05$). Resultados semelhantes foram relatados por Galus e Lenart (2013), que explicam que um aumento da

percentagem de pectina tende a perturbar a estrutura interna dos filmes, tornando a película mais frágil. Chan *et al.* (2011) também observou este comportamento na determinação do efeito da formulação das esferas de alginato sobre o seu comportamento mecânico e rigidez quando comprimidas a alta velocidade.

Na Figura 24 é possível observar o efeito da pectina e alginato no peso das películas. Verifica-se que o ensaio com 0,8% de alginato apresenta um peso inferior aos restantes ensaios e o ensaio com 1,5% pectina apresenta películas com maior peso ($p>0,05$). Este comportamento indica que quanto maior a percentagem de pectina nas esferas maior será o peso das películas.

Segundo Galus e Lenart, (2013) a pectina é menos organizada do que o alginato e no seu trabalho verificou que a espessura de um filme aumenta com o aumento da pectina, tornando a película mais grossa, mas por outro lado menos resistente. Estes resultados vão ao encontro dos que se obtiveram no presente trabalho.

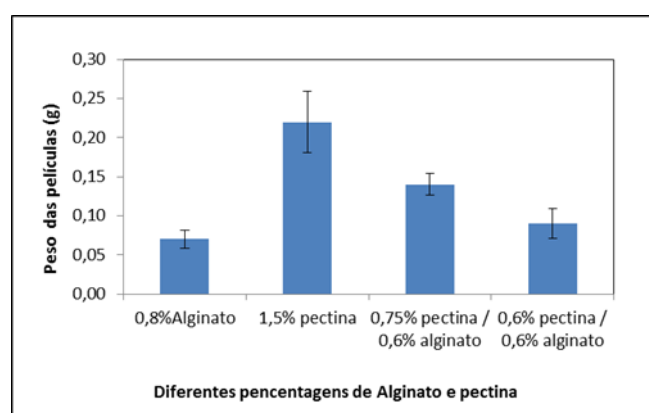


Figura 24 - Peso das películas das diferentes percentagens de pectina e alginato. Estes valores correspondem à média± desvio padrão de 5 repetições.

Este fato pode estar relacionado com a capacidade de retenção de água. Dos resultados obtidos pode-se afirmar que as percentagens de pectina e alginato, têm influência na resistência mecânica das esferas. Com a diminuição da concentração de alginato, as esferas tornam-se menos resistentes. Além disso, quando analisadas no texturómetro, as esferas com 0,8% de alginato não rebentam, enquanto que as restantes

percentagens, algumas sofrem rebentamento. Com a 0,8% de alginato as esferas demonstram ter melhor resistência e, com 1,5% pectina as esferas são menos resistentes à força de compressão do que as restantes.

Segundo um estudo realizado por Galus e Lenart, (2013) quanto maior a percentagem de pectina no sistema, menor resistência tem a estrutura interna dos filmes, ao contrário do alginato, que promove nos sistemas estruturas mais organizada do que a pectina. Apesar da pectina demonstrar ser mais instável que o alginato a interação dos dois demonstra ser crucial, pois conseguem-se obter películas resistentes mas ao mesmo tempo mais suaves, do que se fosse só com alginato. A sinergia entre a pectina e o alginato demonstra ser uma boa opção, pois forma películas mais suaves (menor firmeza), mas por outro lado a interação entre estas causa a alteração do interior da esferas, isto é, um aumento da viscosidade do interior, tornando o menos líquido.

De forma a selecionar qual a formulação mais adequada sensorialmente procedeu-se a uma prova de análise sensorial

4.2.3 Análise sensorial das esferas com diferentes concentrações de pectina e alginato

A prova de análise sensorial teve como objetivo selecionar a formulação com a textura e aparência adequada para posterior incorporação numa matriz real e análise da estabilidade. As esferas resultam da combinação de uma formulação da solução do preparado, que se mantém mais ou menos líquido no interior da esfera, e de um banho de esferificação, o qual influencia a espessura e a firmeza da película da esfera. Submeteram-se à análise sensorial as esferas obtidas com as diferentes combinações de alginato e pectina do banho de esferificação (ponto 3.3.3.).

Na Figura 25 é possível observar os resultados obtidos relativamente aos atributos “aparência geral”, “dureza”, “desfaz-se na boca” e “sente-se a película” da prova de análise sensorial no qual participaram provadores não treinados.

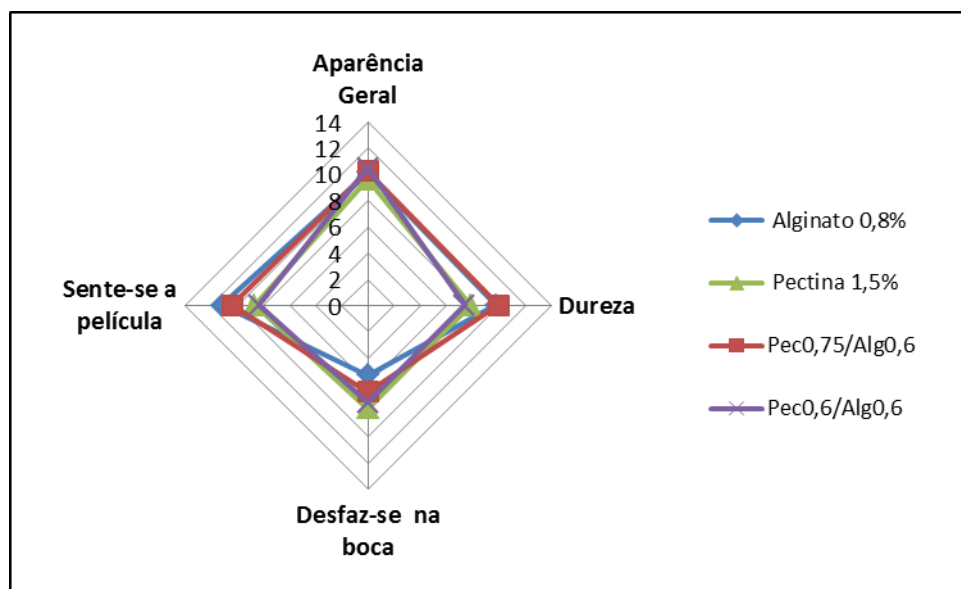


Figura 25 - Classificação média das características dos atributos das diferentes composições em análise. A separação das médias pelo teste Tukey foi realizado por atributos separadamente.

Relativamente à “aparência geral” verifica-se que não há diferenças significativas entre os ensaios ($p>0,05$), o que seria de esperar uma vez que a solução de preparado utilizada continha as mesmas características, diferenciando-se umas das outras apenas na constituição da composição da película, mas que se reproduz visualmente.

Pelo contrário, relativamente ao atributo “dureza” é possível verificar que as amostras agrupam-se duas a duas, isto é, existem duas amostras que se mostram mais duras, com 0,8% alginato e com 0,75% pectina/0,6% alginato (Pec0,75/0,6Alg), em relação às outras duas amostras, em 1,5% pectina e em 0,6% pectina/0,6% alginato (Pec0,60/0,6Alg) ($p<0,05$). Também é possível verificar que os provadores indicaram as esferas com 0,8% de alginato como sendo as mais duras, o que pode ser explicado pelo aumento da percentagem de alginato. Pois quanto maior a percentagem de alginato, maior será a resistência da esfera, logo vai apresentar maior dureza ($p<0,05$).

Quanto aos atributos “desfaz-se na boca” e “sente-se a película”, que estão relacionados com a dureza, verifica-se que apresentam o mesmo comportamento, isto é, quanto maior a dureza, maior é a força necessária para desfazer a película, o que conduz a um aumento de perceção na boca, aumentando assim a perceção de sentir a película. Estudos comprovam (Galus e Lenart, (2013)) que quanto maior a concentração de pectina,

mais grossa é a película o que não significa que seja mais resistente, ao contrário do alginato que com o aumento da concentração não aumenta a espessura, mas torna-a mais plástica, aumentando assim a sua resistência.

No que diz respeito ao atributo “desfaz-se na boca” verifica-se que as esferas com 0,8% de alginato apresentam diferenças significativas relativamente aos restantes ($p < 0,05$). Tal como referido anteriormente elevadas concentrações de alginato provocam o endurecimento da película, que por sua vez vai aumentar a sensação da película na boca, ou seja, o tempo para a conseguir desfazer a película será maior. Quando comparada com a Pec0,6/Alg0,6, esta tem uma película mais suave o que será mais fácil de desfazer.

Quanto ao atributo “sente-se a película”, verifica-se que há diferenças significativas entre o ensaio com 0,8% de alginato e com 1,5% de pectina ($p < 0,05$) e entre 0,8% alginato e com Pec0,6/Alg0,6 ($p < 0,05$). Quando se avaliam as esferas sensorialmente, apesar de apresentarem uma película mais grossa 1,5% de pectina, esta desfaz-se facilmente, sendo comparada estatisticamente com o alginato a 0,8%, que apesar de ter uma película fina, apresenta uma sensação de boca desagradável. O mesmo vai acontecer nas combinações de 0,8% de alginato com Pec0,6/Alg0,6, pois este último é semelhante ao ensaio com 1,5% de pectina.

De um modo geral pode-se concluir que os melhores ensaios são aqueles que apresentam a interação entre a pectina e o alginato, pois são aquelas que apresentam uma película mais agradável.

4.2.4 Estabilidade das esferas ao longo do tempo

Dos ensaios realizados anteriormente selecionaram-se as formulações com 0,6% pectina/0,6% alginato e com 0,75% pectina/0,6% alginato para análise da estabilidade ao longo de 28 dias, a 3°C em xarope. Analisaram-se diversos parâmetros: perda de peso, pH, teor de sólidos solúveis (TSS) e firmeza. Os resultados referentes à firmeza das esferas para as duas composições, encontram-se na Tabela 12 e na Figura 26 com a respetiva análise estatística. As letras A correspondem à composição de 0,6% pectina/0,6% alginato sendo A0 antes do tratamento (ANT) e do A1-A5 corresponde após tratamento (APT) ao longo do tempo (28 dias), com as respetivas médias. A letra B corresponde à composição

de 0,75%pectina/0,6% alginato em que o B0 é antes do tratamento (ANT) e do B1-B5 corresponde após tratamento (APT) ao longo do tempo (28 dias), com as respectivas médias.

Tabela 12 - Resultados obtidos da força de compressão das esferas dos estudos, 0,60% pectina/0,6% alginato (A) e do estudo 0,75% pectina/0,6% alginato (B), ao longo do tempo. Os valores correspondem às médias \pm desvio padrão de 15 repetições.

Grupos	Força de compressão (N)
A0	2,78 \pm 0,50
A1	2,95 \pm 0,73
A2	3,16 \pm 0,76
A3	3,55 \pm 0,75
A4	3,57 \pm 0,80
A5	2,86 \pm 0,95
B0	4,28 \pm 0,89
B1	4,22 \pm 0,85
B2	4,51 \pm 0,81
B3	4,56 \pm 0,71
B4	4,55 \pm 0,81
B5	3,56 \pm 0,88

Na Tabela 12 é possível observar que a força de compressão das esferas no estudo 0,75% pectina/0,6% alginato é maior (4,28 \pm 0,89 N), do que no estudo de 0,6%pectina/0,6% alginato (2,78 \pm 0.50 N) ($p<0,05$), o que seria de esperar pois a percentagem de hidrocolóides é maior, o que proporciona a um aumento de firmeza. No que diz respeito à firmeza antes e após pasteurização no ensaio com 0,6%pectina/0,6% alginato, existe um ligeiro aumento de firmeza após a pasteurização ($p<0,05$), enquanto que no ensaio com 0,75% pectina/0,6% alginato, há uma ligeira diminuição de firmeza ($p<0,05$), que pode estar relacionado com o tempo de adaptação das esferas com o meio. Ao longo do tempo verifica-se que há um ligeiro aumento da firmeza, até uma determinada altura (21 dias), existindo de seguida uma diminuição. Este comportamento pode estar relacionado com o tempo de vida do produto (Figura 26). Avaliando as esferas ao longo do tempo e qual o efeito do tempo de armazenagem das esferas, nos dois estudos pode dizer-se que há diferenças significativas entre elas ($p<0,05$).

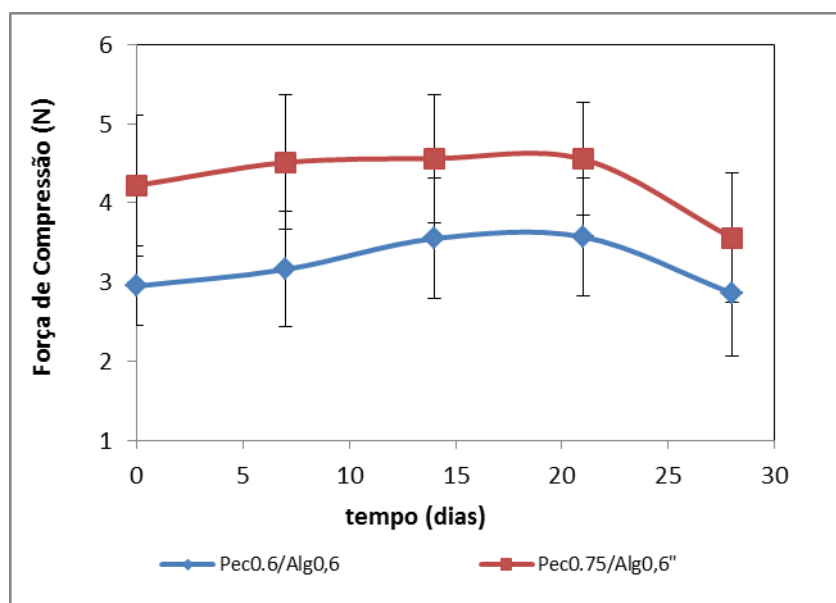


Figura 26 - Resultados obtidos da força de compressão das esferas nas diferentes composições durante 28 dias e respetiva média \pm desvio padrão associado

Analisando a Figura 26 verifica-se que nas duas situações estudadas as esferas apresentam um comportamento semelhante. No caso do ensaio com 0,6% pectina/0,6% alginato ao longo do tempo de armazenamento verifica-se que estatisticamente não há diferenças significativas ao longo do tempo ($p > 0,05$), o que leva a concluir que as esferas não sofrem grandes alterações ao longo de 28 dias de armazenamento. Ao contrário, no caso do ensaio com 0,75% pectina/0,6% alginato existem diferenças significativas ($p < 0,05$) ao longo do tempo de armazenamento. De fato constata-se uma perda acentuada da firmeza das esferas, tornando-as assim menos estáveis.

Da Figura 26 ainda que nos dois ensaios existe perda de firmeza ao fim de 28 dias, podendo estar relacionado com o tempo de vida do produto, ou com o tempo de adaptação das esferas com o meio envolvente, pois só perdem firmeza após 21 dias de armazenamento. O ensaio com 0,6% pectina/0,6% alginato é o que apresenta valores de firmeza mais estáveis ao longo dos 28 dias.

Na Figura 27 é possível observar a variação do peso das esferas ao longo do tempo de armazenamento.

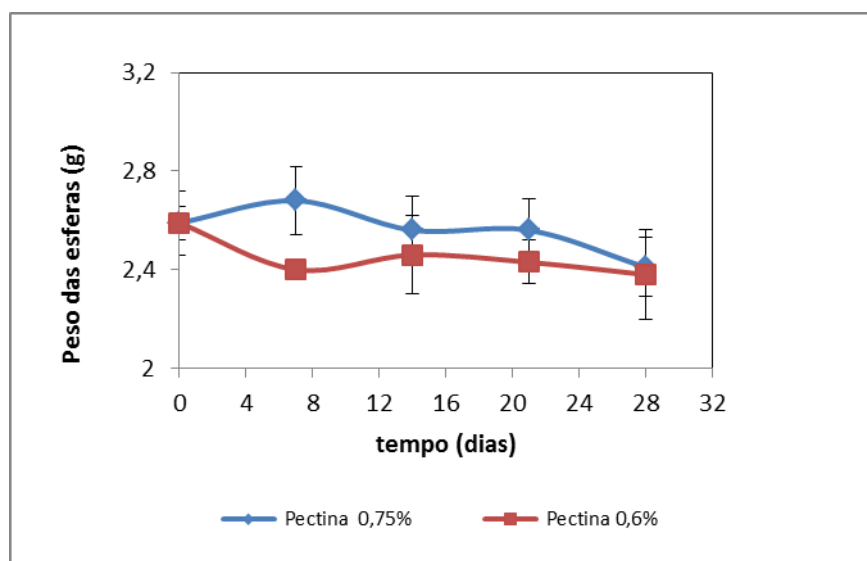


Figura 27 - Variação do peso das esferas das diferentes composições ao longo de 28 dias e respetiva média \pm desvio padrão associado de 3 repetições.

Pode-se verificar que a combinação de 0,75% pectina/0,6% alginato é aquela que apresenta maior peso das esferas, e que se mantém ao longo dos 28 dias ($p < 0,05$), quando comparada com o ensaio com 0,6% pectina/0,6% alginato.

Quando avaliados estatisticamente verifica-se que no caso do ensaio com 0,6% pectina/0,6% alginato não apresenta diferenças significativas ($p > 0,05$), ao longo do tempo, traduzindo-se num comportamento estável.

No caso do ensaio com 0,75% pectina/0,6% alginato, após análise estatística verifica-se que existem diferenças do peso das esferas ao longo do tempo ($p < 0,05$). Uma vez que existe diferenças foi necessário avaliar quais as diferenças entre as diferentes médias, para tal foi necessário recorrer ao teste de Tukey HSD para um nível de significância de 0,05. Após análise verificou-se que existem diferenças entre o B0 e o B5 ($p < 0,05$). Esta diferença pode estar relacionada com o fato das esferas não terem a mesma massa nos diferentes dias ou pode estar relacionada com a permeabilidade das esferas, o que pode conduzir a uma migração da água do interior da esfera para o exterior, fazendo com que ocorra perda de peso associado.

Relativamente aos resultados do teor de sólidos solúveis ao longo do tempo de armazenamento (Figura 28), verifica-se que estes demonstram ser constantes apresentando uma pequena variação antes e após a pasteurização, que poderá estar relacionado com a fase de adaptação das esferas ao meio.

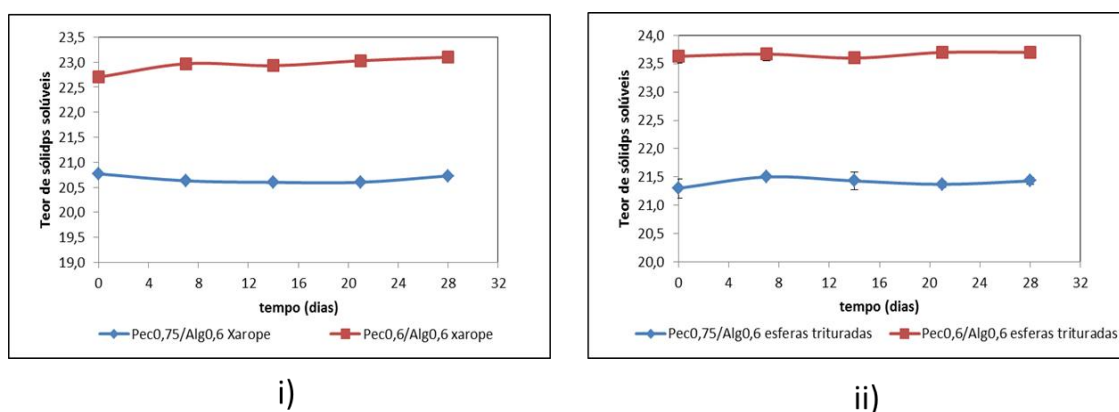


Figura 28 - Valores obtidos do teor de sólidos solúveis dos dois estudos i) xarope e ii) esferas trituradas, com o respetivo média \pm desvio padrão com 3 repetições.

Analisando a evolução do pH das esferas ao longo do tempo verifica-se que parece haver interação entre o xarope e as esferas, como é possível verificar no gráfico da Figura 29. Avaliando o ensaio com 0,75% pectina/0,6% alginato pode-se concluir que parece existir maior instabilidade, ou seja, quando o pH do xarope aumenta, o pH das esferas trituradas diminui, ($p < 0,05$). No ensaio com 0,6% pectina/0,6% alginato, este apresenta-se mais estável comparativamente ao outro ensaio, uma vez que se observa uma evolução do pH semelhante entre o xarope e as esferas trituradas.

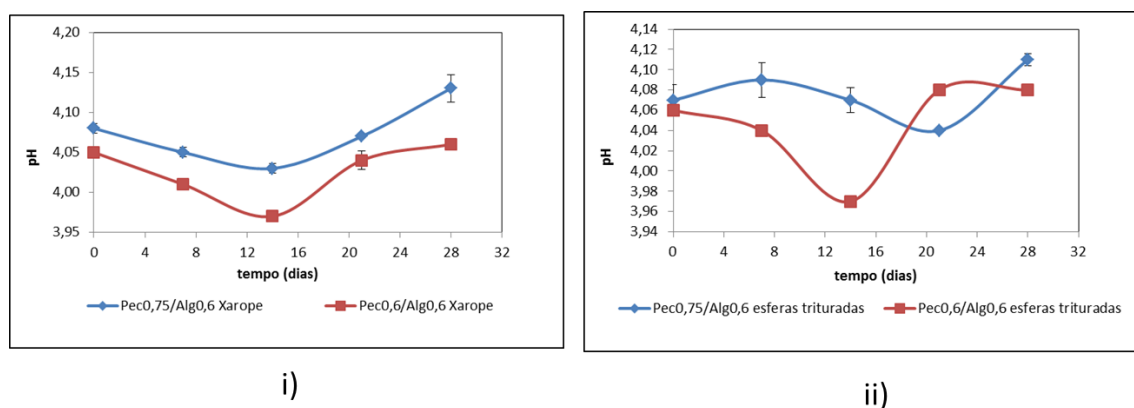


Figura 29 - Valores obtidos do pH dos dois estudos, i) xarope e ii) esferas trituradas, com o respetivo média \pm desvio padrão com 3 repetições.

Deste modo os dois ensaios parecem ter uma fase de adaptação semelhante. Estes dados permitem concluir que a percentagem de hidrocolóides, como o tempo ao longo do de armazenamento e o respetivo acondicionamento, vai ter influência na firmeza das esferas.

4.3 Caso de estudo: Estudo das esferas em preparado / Iogurte ao longo do tempo

A formulação selecionada 0,6% alginato/0,6% pectina, foi incorporada em iogurte de forma avaliar qual a influência desta matriz na firmeza das esferas. Na Tabela 7 encontra-se esquematizada os tempos de amostragem da experiência. Inicialmente avaliou-se o efeito do tempo ($t=0$ e $t=1$), no xarope e no preparado aromatizado e de seguida avaliou-se a influência da respetiva incorporação das esferas no xarope e no preparado aromatizado nos $t=0$ e no $t=1$. Depois foi avaliado qual o efeito do preparado aromatizado incorporado em iogurte ao longo de 21 dias, nos tempos 0 e tempo 1 (Tabela 13).

Através da Tabela 13 verifica-se que tanto no xarope como no preparado aromatizado as esferas não apresentam alterações do nível do pH e °Brix para o tempo zero

dias (t0) e 30 dias (t1). O mesmo comportamento se observa no caso das esferas incorporadas no iogurte para ambos os tempos.

Tabela 13 - Resultados obtidos da firmeza, pH e °Brix das difentes aplicações ao longo to tempo. Com as respectivas médias \pm desvio padrão de 3 repetições.

	Tempo (dias)	Firmeza	pH	°Brix
Xarope	0 dias	4,31 \pm 1,08	4,03 \pm 0,00	26,33 \pm 0,06
	30 dias	5,02 \pm 0,66	4,05 \pm 0,01	26,37 \pm 0,06
Preparado aromatizado	0 dias	5,04 \pm 1,54	3,95 \pm 0,01	34,17 \pm 0,21
	30 dias	4,17 \pm 1,18	3,97 \pm 0,02	34,30 \pm 0,21
Preparado aromatizado + iogurte 1	t0+ 2 dias	3,62 \pm 0,81	4,18 \pm 0,04	20,00 \pm 0,10
	t0+10 dias	3,92 \pm 0,91	4,14 \pm 0,02	20,80 \pm 0,10
Preparado aromatizado + iogurte 2	t0+ 2 dias	3,41 \pm 0,72	4,16 \pm 0,02	20,93 \pm 0,06
	t1+ 2 dias	3,79 \pm 0,65	4,14 \pm 0,01	20,43 \pm 0,90
	t1+ 10dias	4,07 \pm 0,88	4,13 \pm 0,01	21,23 \pm 0,32
	t1+ 21 dias	3,72 \pm 1,06	4,14 \pm 0,01	20,87 \pm 0,36

Legenda: t0=primeiro mês (0 dias) e t=1 é após 1 mês (30 dias) da produção.

Os resultados obtidos da firmeza das esferas ao longo do tempo e a análise estatística associada, encontram-se nas Figura 30.

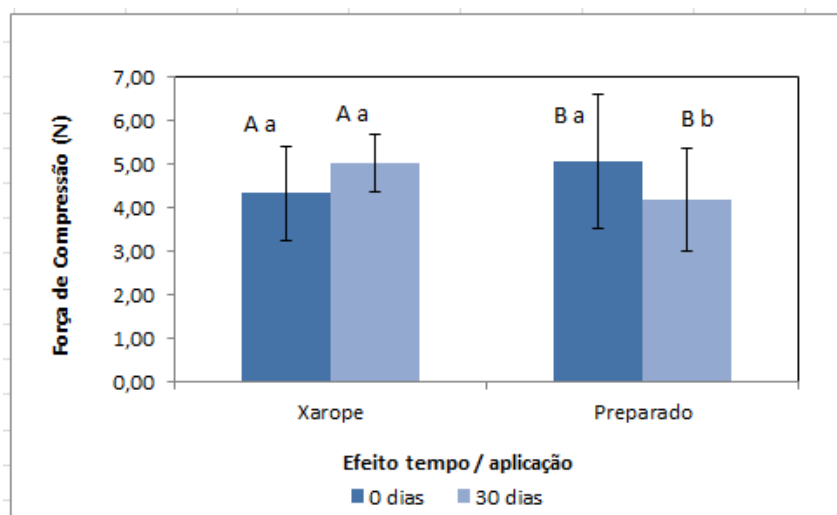


Figura 30 - Variação da força de compressão (firmeza) das esferas no efeito do tempo/aplicação e respectiva análise estatística associada.

Nota: As letras diferentes correspondem a médias estatisticamente diferentes para $\alpha < 0,05$, pelo teste de Tukey HSD. Letras maiúsculas correspondem ao efeito tempo (comparando médias entre o tempo 0 (0 dias)

e o tempo 1 (30 dias) e letras minúsculas correspondem ao efeito de aplicação (comparando médias entre o tempo 0 (0 dias) e o tempo 1 (30 dias)).

Relativamente ao xarope verifica-se que não há diferenças significativas na firmeza das esferas ao longo do tempo ($p>0,05$). O mesmo comportamento é observado no caso do preparado. No tempo 1 (30 dias) de armazenamento, verifica-se que as esferas em xarope apresentam maior firmeza quando comparadas com as esferas em preparado aromatizado ($p<0,05$).

Na Figura 31 é possível observar o efeito do iogurte no preparado aromatizado na firmeza das esferas ao longo do tempo de armazenamento. Relativamente ao iogurte verifica-se que de uma forma geral, não há diferenças significativas na firmeza das esferas. Quando comparadas com o preparado aromatizado pode-se concluir que não há diferenças significativas ($p>0,05$).

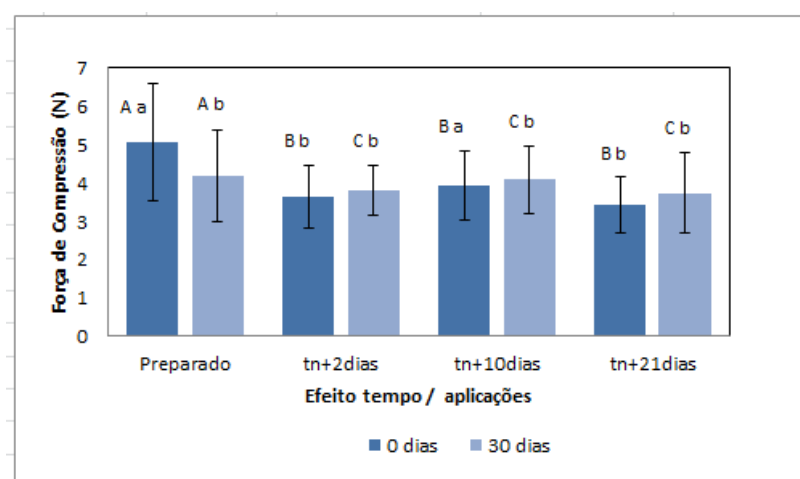


Figura 31 - Variação da força de compressão das esferas no preparado e preparado+ iogurte no efeito do tempo/aplicação e respetiva análise estatística associada.

Nota: As letras diferentes correspondem a médias estatisticamente diferentes para $\alpha < 0,05$, pelo teste de Tukey HSD. Letras iguais correspondem a médias estatisticamente iguais. Letras maiúsculas correspondem ao efeito tempo e letras minúsculas correspondem ao efeito de aplicação.

Apesar do iogurte conter cálcio, este não vai influenciar o aumento da firmeza das esferas, como é possível verificar no gráfico (Figura 31), quando comparado com o preparado.

De um modo geral assume-se que as diferenças existentes não são significativas o que leva a concluir que tanto a solução de preparado, como o preparado aromatizado em iogurte não vão ter influência na firmeza das esferas. Por outro lado, a presença de cálcio existente no iogurte não vai aumentar a dureza das esferas, este facto pode estar relacionado com o processo gelificação da esfera, ou seja, a esfera reage com o cálcio no banho de gelificação e quando esta é retirada o processo de gelificação termina, logo quando é exposta a outro produto que contenha cálcio não vai ter qualquer influência. Concluindo deste modo que o cálcio não vai provocar um aumento de endurecimento do produto.

5. CONCLUSÕES GERAIS

A produção de esferas de alginato/pectina com centro líquido, assim como as variáveis associadas ao processo, necessitam de ser analisadas experimentalmente, para se compreender melhor quais as condições ótimas para a formação de esferas com as características pretendidas.

Relativamente aos ensaios preliminares com diferentes percentagens de amidos, pode-se concluir que percentagens inferiores a 1,5%, não favorecem a formação de esferas. A percentagem de 3,0% proporcionou bubbles mais esféricas e firmes.

No estudo relativo ao efeito da sacarose pode-se concluir que quanto maior a percentagem de sacarose, menor será a viscosidade do preparado assumindo deste modo que a melhor percentagem para obtenção de esferas foi de 32% de sacarose.

No estudo da temperatura da solução do preparado, verificou-se que o intervalo de temperatura mais adequado situa-se entre 45°C e 50°C, pois influencia diretamente a consistência do preparado.

Relativamente ao estudo da temperatura do banho de esferificação, concluiu-se que a temperatura de 50°C favoreceu a resistência mecânica das esferas, quando comparadas com as restantes temperaturas.

A análise do ensaio da composição do banho de esferificação mostrou que a concentração de pectina e de alginato têm influência na resistência das esferas. A concentração de alginato que promovia maior resistência às esferas foi 0,8%. Pelo contrário, com 1,5 % de pectina as esferas apresentaram menor firmeza. Deste modo percebeu-se que a sinergia entre a pectina e o alginato seria uma boa opção, pois apresenta uma resistência aceitável e principalmente forma géis com películas mais suaves.

Os resultados obtidos na prova de análise sensorial, permitiram concluir que a composição do banho de esferificação influencia significativamente o tipo de película das esferas, pelo que se seleccionou a formulação com 0,6% de pectina com 0,6% de alginato pois foi a que apresentou uma película mais agradável, segundo a opinião do painel de provadores.

Relativamente à estabilidade das esferas ao longo do tempo, pode-se concluir que ambas as formulações, de alginato e pectina, se mantêm estáveis ao longo do tempo de armazenamento de 28 dias, apesar do ensaio com 0,6% de pectina / 0,6% de alginato apresentar maior estabilidade térmica. Concluiu-se ainda que a percentagem dos hidrocolóides influencia diretamente a resistência mecânica das esferas ao longo do tempo de armazenamento das esferas.

A avaliação da estabilidade das esferas, armazenadas em calda de conservação, permitiu concluir que ambas as formulações estudadas apresentaram o mesmo comportamento ao longo do tempo. O caso de estudo demonstrou que as Bubbles em calda de conservação, e aplicadas em preparado aromatizado e em iogurte natural, não sofreram alterações significativas de textura ao longo dos 2 meses de armazenamento.

Como trabalho futuro sugere-se o seguinte:

- Aplicação de filmes edíveis de forma a prevenir a migração do corante para o exterior;
- Utilização de plastificante por exemplo glicerol ou sorbitol.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Anônimo 1, (2014), Frulact- Indústria Agro-alimentar. [Consultado: 5 de Janeiro 2014]
disponível em: <http://www.frulact.pt>

Anônimo 2, 2014, [isbubbletea.com/#!bubbletea/c66t](http://www.isbubbletea.com/#!bubbletea/c66t). [consultado: 7 de Agosto de 2014]
Disponível em: <http://www.isbubbletea.com/#!bubbletea/c66t>

Anônimo 3, (2014), [Molecularrecipes.com-Techniques- spherification techniques- spherification](http://www.molecularrecipes.com/spherification). [consultado:17 de Julho de 2014]
disponível em: <http://www.molecularrecipes.com/spherification>

Belitz, H. D., W. Grosch, and P. Schieberle, (2009). *Food Chemistry*, Berlim, Germany: Springer - Verlag.

Brejnholt, S. M., (2010). Pectin, *In Food Stabilisers, Thickeners and Gelling Agents*, Imeson Alan, Blackwell Publishing Ltd, p.237-265.

Chan, E. S., T. K. Lim, W. P. Voo, R. Pogaku, B. T. Tey, and Z. B. Zhang, (2011), Effect of formulation of alginate beads on their mechanical behavior and stiffness: *Particuology*, v. 9, p. 228-234.

Chen, L., and U. L. Opara, (2013). Texture measurement approaches in fresh and processed foods - A review: *Food Research International*, v. 51, p. 823-835.

Draget, K. I., S. T. Moe, G. Skjak-Braek, and O. Smidsrod, (2006), Alginates, *In Food Polysaccharides and Their Applications*, Alistair Stephen, M. Phillips, Glyn O. Williams, Peter A. (eds.), United States of Americap: Taylor & Francis Group, p. 289-328.

Zobel., F. Henry., and Stephen. M. Alistair, (2006). Starch: Structure, Analysis, and Application, *In Food Polysaccharides and Their Applications*, Stephen,Alistair

- M. Phillips, Glyn O. Williams, Peter A., Taylor & Francis Group, LLC: United States of America, p.25-85.
- Fox, J. E., (1997), Seed gums, *In Thickening and Gelling Agents for food*, Imeson Alan, Blackie Academic and Professional, p. 304.
- Galus, S., and A. Lenart, (2013), Development and characterization of composite edible films based on sodium alginate and pectin: *Journal of Food Engineering*, v. 115, p. 459-465.
- Helgerud, T., O. Gaserod, T. Fjæreide, P. O. Andersen, and C. K. Larsen, (2010), Alginates, *In Food Stabilisers, Thickeners and Gelling Agents*, Imeson Alan, Blackwell Publishing Ltd, 2010, p.50-72.
- Lee, K. Y., and D. J. Mooney, (2012), Alginate: Properties and biomedical applications: *Progress in Polymer Science*, v. 37, p. 106-126.
- Lee, P., and M. A. Rogers, (2013), Effect of calcium source and exposure-time on basic caviar spherification using sodium alginate School of Environmental and Biological Sciences, Department of Food Science, Rutgers University, The State University of New Jersey, New Brunswick, NJ 08901, USA
- Manthey, F. A., and Y. Xu, (2010), Galactomannan, *In Advances in Food Biochemistry*, Yildiz, Fatih, CRC Press: Taylor & Francis Group, 2010, p.40-41.
- May, C. D., (1997), Pectin, *In Thickening and Gelling Agents for food*, Imeson Alan, Blackie Academic and Professional, p. 230-260 .
- Moura, J.I.M.G, (2011), Desenvolvimento de metodologias para aplicação de hidrocolóides a técnicas culinárias de vanguarda, Universidade Nova de Lisboa, Lisboa, Portugal.

- Mudgil, D., S. Barak, and B. S. Khatkar, (2014), Guar gum: processing, properties and food applications-A Review: *Journal of Food Science and Technology-Mysore*, v. 51, p. 409-418.
- Munarin, F., M. C. Tanzi, and P. Petrini, (2012), Advances in biomedical applications of pectin gels: *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 51, p. 681-689.
- Nedovic, V., A. Kalusevic, V. Manojlovic, S. Levic, and B. Bugarski, (2011), An overview of encapsulation technologies for food applications: 11th International Congress on Engineering and Food (Icef11), v. 1, p. 1806-1815.
- Nussinovitch, A., and M. Hirashima, (2013), *Cooking Innovations: Using Hydrocolloids for Thickening, Gelling, and Emulsification* CRC Press: Taylor & Francis Group, LLC, 2013.
- Onsoyen, E., (1997), Alginates, *In Thickening and Gelling Agents for Food*, Imeson Alan, Blackie Academic and Professional, p. 22-44.
- Prajapati, V. D., G. K. Jani, N. G. Moradiya, N. P. Randeria, B. J. Nagar, N. N. Naikwadi, and B. C. Variya, (2013). Galactomannan: A versatile biodegradable seed polysaccharide, *International Journal of Biological Macromolecules*, 60, 83-92.
- Quemener, B., C. Marot, L. Mouillet, V. Da Riz, and J. Diris, (2000), Quantitative analysis of hydrocolloids in food systems by methanolysis coupled to reverse HPLC. Part 2. Pectins, alginates and xanthan: *Food Hydrocolloids*, v. 14, p. 19-28.
- Rapaille, A. V., J., (1997), Modified starches, *In Thickening and Gelling Agents for food*, Imeson Alan, Blackie Academic and professional, p. 199-229.

Regulamento (CE) N.º 1333/2008 do Parlamento Europeu e do Conselho de 16 de Dezembro de 2008 relativo aos aditivos alimentares.

Rolin, C., and J. Vries, (1990), Pectin, *In Food Gel*, Peter Harris, Elsevier Science Publishers, LTD: England, p. 401-434.

Saha, D., and S. Bhattacharya, (2010), Hydrocolloids as thickening and gelling agents in food: a critical review: *Journal of Food Science and Technology-Mysore*, v. 47, p. 587-597.

Sime, W. J., (1990), Alginates, *In Food Gel*, Peter Harris, Elsevier Science Publishers, LTD: England, p.53-77.

Silva, M. A., A. C. K. Bierhalz, and T. G. Kieckbusch, (2009), Alginate and pectin composite films crosslinked with Ca²⁺ ions: Effect of the plasticizer concentration: *Carbohydrate Polymers*, v. 77, p. 736-742.

Silva, J. A. L. d., and M. A. Rao, (2006), Pectins: Structure, Functionality and Uses, in *Food Polysaccharides and Their Applications*, Stephen, Alistair M. Phillips, Glyn O. Williams, Peter A., Taylor & Frances Group, LLC: United States of America, 2006, p.353-411.

Thakur, B. R., R. K. Singh, and A. K. Handa, 1997, Chemistry and uses of pectin - A review: *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v. 37, p. 47-73.

Urlacher, B. a. N., O., (1997), Xanthan gum, *In Thickening and Gelling Agents for food*, Imeson Alan, Blackie Academic and Professional, p. 284-311.

Wang, Q., J. Pagán, and J. Shi, (2002), Volume 2: Functional Foods- Biochemical and Processing Chapter 9- Pectin from Fruits.

Williams, P. A. a. P., G. O., (2009), Introduction to food hydrocolloids, *In Handbook of hydrocolloids*, Woodhead Publishing Limited, Abington Hall, Granta Park, Great Abington, Cambridge CB21 6AH, UK, p. 1-22.

APÊNDICES

APÊNDICE I – Fotos dos Equipamentos utilizados.



Figura 32 - Potenciômetro Consort C860.



Figura 33 - Refratômetro RRN732, B+S (Bellingham+Stanley Ltd).

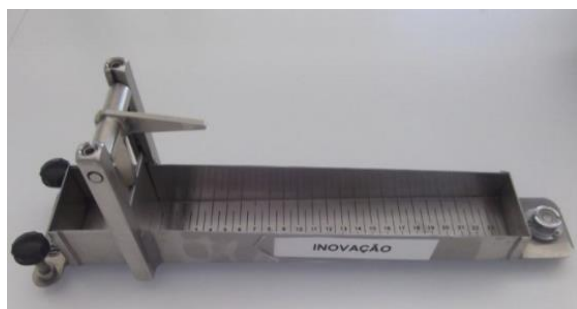


Figura 34 - Viscosímetro de Bostwick



Figura 35 - Texturômetro TA.XTplus (Stable Mycro Systems)



Figura 36- Balança analítica

APÊNDICE II - Resultados obtidos para os parâmetros de °Brix, pH, Viscosidade, das diferentes amostras de amido no ensaio preliminar e ANOVA.

Tabela 14 - Resultados obtidos dos parâmetros analisados das diferentes percentagens do amido

	°Brix	pH	Viscosidade (cm/60s)
Amido 1.5%	34.50	6.84	16.25
	34.70	6.80	16.25
	35.00	6.81	16.50
Média	34.73	6.82	16.33
Desvio padrão	0.25	0.021	0.14
Amido 2.0%	35.90	6.46	9.25
	35.10	6.41	9.50
	35.70	6.47	9.50
Média	35.57	6.45	9.42
Desvio padrão	0.42	0.032	0.14
Amido 2.5%	37.50	6.18	8.00
	37.10	6.21	7.75
	37.50	6.18	7.50
Média	37.37	6.19	7.75
Desvio padrão	0.23	0.017	0.25
Amido 3.0%	37.50	6.14	5.75
	38.00	6.18	6.00
	37.70	6.16	6.00
Média	37.73	6.16	5.92
Desvio padrão	0.25	0.020	0.25

Tabela 15 - Valores de p obtidos a partir do tests ANOVA para diferentes percentagens de amido:2,0%, 2,5% e 3,0%.

	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
Firmeza	70,96215	5	14,19243	121,629	84	1,44796	9,80163	0,00000
a				2		6	2	0

Tabela 16 – Resultados do teste Tukey HSD para diferentes percentagens de amido antes pasteurização (AN) e após a pasteurização (AP).

	2,0% AP	2,0% AN	2,5% AP	2,5% AN	3,0% AN	3,0% AP
2,0% AP		0,849001	0,000127	0,193142	0,002736	1,000000
2,0% AN	0,849001		0,000594	0,854257	0,081688	0,881143
2,5% AP	0,000127	0,000594		0,022095	0,565249	0,000129
2,5% AN	0,193142	0,854257	0,022095		0,626048	0,223323
3,0% AN	0,002736	0,081688	0,565249	0,626048		0,003476
3,0% AP	1,000000	0,881143	0,000129	0,223323	0,003476	

APÊNDICE III – Resultados obtidos no efeito da temperatura do banho de esferificação.

Tabela 17 - Valores de p obtidos a partir do teste ANOVA para diferentes temperaturas 70, 50 e 27°C.

	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
Ante s	59,49680	2	29,74840	37,50489	42	0,892974	33,31386	0,000000
Após	35,48445	2	17,74222	50,76456	42	1,208680	14,67901	0,000015

Tabela 18- Valores obtidos do teste Tukey HSD antes da pasteurização, para um nível de significância de p=0,05

Grupos	70 °C	50 °C	27 °C
70 °C		0,000119	0,639800
50 °C	0,000119		0,000119
27 °C	0,639800	0,000119	

Tabela 19 - Valores obtidos do teste Tukey HSD após a pasteurização, para um nível de significância de p=0,05

Grupos	70 °C M=4,60	50 °C M=5,88	27 °C M=3,72
70 °C		0,007720	0,081621
50 °C	0,007720		0,000125
27 °C	0,081621	0,000125	

APÊNDICE IV – Resultados obtidos no efeito da composição do banho de esferificação.

Tabela 20 - Valores obtidos do teste Tukey HSD nas diferentes concentrações, para um nível de significância de $p=0,05$

Grupos	0,75% pectina e 0,6% de alginato	0,6% pectina e 0,6% de alginato	1,5% pectina	0,8% Alginato
0,75% pectina e 0,6% de alginato	0,84163			
0,6% pectina e 0,6% de alginato		0,44335		
1,5% pectina			0,11873	
0,8% Alginato				0,16314

Tabela 21 - Valores de p obtidos a partir do teste ANOVA para diferentes concentrações antes da pasteurização.

	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
Firmeza	104,8996	3	34,96654	33,10824	56	0,591219	59,14318	0,000000

Tabela 22 - Valores obtidos do teste Tukey HSD antes da pasteurização, para um nível de significância de $p=0,05$

Grupos	0,75% pectina e 0,6% de alginato	0,6% pectina e 0,6% de alginato	1,5% pectina	0,8% Alginato
0,75% pectina e 0,6% de alginato		0,000165	0,000159	0,00090
0,6% pectina e 0,6% de alginato	0,000165		0,044295	0,000159
1,5% pectina	0,000159	0,044295		0,000159
0,8% Alginato	0,00090	0,000159	0,000159	

Tabela 23 - Valores de p obtidos a partir do teste ANOVA para diferentes concentrações após da pasteurização.

	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
Firmeza	103,7408	3	34,58026	35,67606	56	0,637073	54,27994	0,000000

Tabela 24 - Valores obtidos do teste Tukey HSD após a pasteurização, para um nível de significância de $p=0,05$

Grupos	0,75% pectina e 0,6% de alginato	0,6% pectina e 0,6% de alginato	1,5% pectina	0,8% Alginato
0,75% pectina e 0,6% de alginato		0,000482	0,000159	0,000160
0,6% pectina e 0,6% de alginato	0,000482		0,358050	0,000159
1,5% pectina	0,000159	0,358050		0,000159
0,8% Alginato	0,000160	0,000159	0,000159	

APÊNDICE V – Resultados obtidos dos parâmetros da análise sensorial, com média \pm desvio padrão associado.

Tabela 25 - Resultados obtidos da análise sensorial. Estes resultados apresentam médias \pm desvio padrão e a respectiva análise estatística ANOVA dos parâmetros avaliados.

Atributos	Composição	Médias	p-value
Aparência geral	0,8% alginato	10,12 \pm 3,87	$p = 0,85679$
	1,5%pectina	9,58 \pm 3,96	
	Pec0,75/Alg0,6	10,22 \pm 3,76	
	Pec0,6/Alg0,6	10,46 \pm 3,24	
Dureza	0,8% alginato	9,78 \pm 3,36	$p = 0,002741$
	1,5%pectina	7,81 \pm 3,11	
	Pec0,75/Alg0,6	9,93 \pm 2,68	
	Pec0,6/Alg0,6	7,36 \pm 2,89	
Desfaz-se na boca	0,8% alginato	5,30 \pm 3,10	$p = 0,031381$
	1,5%pectina	7,82 \pm 3,06	
	Pec0,75/Alg0,6	6,59 \pm 3,67	
	Pec0,6/Alg0,6	7,38 \pm 3,00	
Sente-se a película	0,8% alginato	11,17 \pm 3,40	$p = 0,006921$
	1,5%pectina	8,67 \pm 3,35	
	Pec0,75/Alg0,6	10,39 \pm 3,35	
	Pec0,6/Alg0,6	8,32 \pm 3,64	

Tabela 26 - Resultados do atributo dureza obtidos das diferentes composições, através do teste Tukey HSD, para um nível de significância de 0,05

Grupos	1,5%pectina	Pec0,6/Alg0,6	Pec0,75/Alg0,6	0,8% alginato
1,5%pectina		0,948200	0,014085	0,023703
Pec0,6/Alg0,6	0,948200		0,060399	0,093224
Pec0,75/Alg0,6	0,014085	0,060399		0,997834
0,8% alginato	0,023703	0,093224	0,997834	

Tabela 27 - Resultados do atributo desfaz-se na boca obtidos das diferentes composições, através do teste Tukey HSD, para um nível de significância de 0,05.

Grupos	1,5%pectina	Pec0,6/Alg0,6	Pec0,75/Alg0,6	0,8% alginato
1,5%pectina		0,959963	0,811210	0,098746
Pec0,6/Alg0,6	0,959963		0,512647	0,028965
Pec0,75/Alg0,6	0,811210	0,512647		0,477996

0,8% alginato	0,098746	0,028965	0,477996
----------------------	----------	----------	----------

Tabela 28 - Resultados do atributo sente-se a película obtidos das diferentes composições, através do teste Tukey HSD, para um nível de significância de 0,05.

Grupos	1,5%pectina	Pec0,6/Alg0,6	Pec0,75/Alg0,6	0,8% alginato
1,5%pectina		0,982585	0,124994	0,015299
Pec0,6/Alg0,6	0,982585		0,256842	0,042097
Pec0,75/Alg0,6	0,124994	0,256842		0,839218
0,8% alginato	0,015299	0,042097	0,839218	

APÊNDICE VI – Estabilidade das esferas ao longo do tempo

Tabela 29 - Resultados da estudo 0,6 % pectina e 0,6 % alginato, relativos ao peso das esferas, pH e °brix do xarope e das esferas trituras, com as respectivas médias \pm desvio padrão de 3 réplicas.

	A0	A1	A2	A3	A4	A5
	2,61	2,55	2,38	2,6	2,5	2,42
Peso das esferas	2,65	2,67	2,41	2,29	2,46	2,18
	2,67	2,56	2,42	2,49	2,33	2,53
Média	2,64	2,59	2,40	2,46	2,43	2,38
Desvio padrão	0,03	0,07	0,02	0,16	0,09	0,18
Xarope						
	22,10	22,70	23,00	23,00	23,00	23,10
°Brix	22,10	22,70	22,90	22,90	23,10	23,10
	22,10	22,70	23,00	22,90	23,00	23,10
Média	22,10	22,70	22,97	22,93	23,03	23,10
Desvio padrão	0,0	0	0,06	0,06	0,06	0,00
	4,05	4,06	4,01	3,97	4,05	4,06
pH	4,05	4,05	4,01	3,98	4,03	4,06
	4,05	4,05	4,01	3,97	4,03	4,06
Média	4,05	4,05	4,01	3,97	4,04	4,06
Desvio padrão	0,00	0,01	0,00	0,01	0,01	0,00
Esferas trituradas						
	22,80	23,50	23,60	23,60	23,70	23,70
°Brix	22,90	23,70	23,80	23,60	23,70	23,70
	22,90	23,70	23,60	23,60	23,70	23,70
Média	22,87	23,63	23,67	23,60	23,70	23,70
Desvio padrão	0,06	0,12	0,12	0,00	0,00	0,00
	4,06	4,05	4,04	3,98	4,08	4,07
pH	4,07	4,06	4,03	3,97	4,07	4,08
	4,07	4,06	4,04	3,97	4,08	4,08
Média	4,07	4,06	4,04	3,97	4,08	4,08
Desvio padrão	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01

Tabela 30 - Resultados da estudo 0,75 % pectina e 0,6 % alginato, relativos ao peso das esferas, pH e °brix do xarope e das esferas trituradas, com as respectivas médias \pm desvio padrão de 3 réplicas.

	B0	B1	B2	B3	B4	B5
Peso das esferas	2,88	2,45	2,83	2,61	2,63	2,49
	2,87	2,65	2,66	2,66	2,63	2,27
	2,86	2,68	2,55	2,40	2,41	2,48
Média	2,87	2,59	2,68	2,56	2,56	2,41
Desvio padrão	0,01	0,13	0,14	0,14	0,13	0,12
Xarope						
	19,80	20,70	20,70	20,60	20,60	20,70
°Brix	19,70	20,80	20,60	20,60	20,60	20,80
	19,70	20,80	20,60	20,60	20,60	20,70
Média	19,73	20,77	20,63	20,60	20,60	20,73
Desvio padrão	0,06	0,06	0,06	0,00	0,00	0,06
	4,06	4,08	4,05	4,02	4,07	4,15
pH	4,07	4,09	4,06	4,03	4,07	4,12
	4,07	4,08	4,05	4,03	4,07	4,12
Média	4,07	4,08	4,05	4,03	4,07	4,13
Desvio padrão	0,01	0,01	0,01	0,01	0,00	0,02
Esferas trituradas						
	20,50	21,10	21,50	21,60	21,40	21,50
°Brix	20,60	21,40	21,50	21,30	21,30	21,40
	20,50	21,40	21,50	21,40	21,40	21,40
Média	20,53	21,30	21,50	21,43	21,37	21,43
Desvio padrão	0,06	0,17	0,00	0,15	0,06	0,06
	4,07	4,11	4,08	4,03	4,11	4,13
pH	4,08	4,08	4,05	4,05	4,11	4,12
	4,07	4,09	4,08	4,05	4,11	4,12
Média	4,07	4,09	4,07	4,04	4,11	4,12
Desvio padrão	0,01	0,02	0,02	0,01	0,00	0,01

Tabela 31 - Valores de p obtidos a partir do tests ANOVA para a força de compressão das esferas dos estudos, 0,60% pectina e 0,6% alginato (A) e do estudo 0,75% pectina e 0,6% alginato (B), ao longo do tempo.

para diferentes concentrações após da pasteurização.

	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
Firmeza	77,86895	11	7,078995	106,2202	168	0,632263	11,19628	0,000000

Tabela 32 - Resultados obtidos da força de compressão das esferas dos estudos, 0,60% pectina e 0,6% alginato (A) e do estudo 0,75% pectina e 0,6% alginato (B), ao longo do tempo, através do teste Tukey HSD, para um nível de confiança $\alpha=0.05$

Gru pos	A0	A1	A2	A3	A4	A5	B0	B1	B2	B3	B4	B5
A0		0,9999 81	0,9763 95	0,2373 95	0,2105 57	1,0000 00	0,0000 30	0,0000 59	0,0000 18	0,0000 18	0,0000 18	0,2238 23
A1	0,9999 81		0,9999 12	0,6474 46	0,6082 92	1,0000 00	0,0003 09	0,0008 30	0,0000 22	0,0000 19	0,0000 20	0,6281 30
A2	0,9763 95	0,9999 12		0,9716 37	0,9620 88	0,9970 87	0,0063 09	0,0143 99	0,0002 09	0,0001 05	0,0001 18	0,9671 62
A3	0,2373 95	0,6474 46	0,9716 37		1,0000 00	0,4173 49	0,3349 06	0,4866 09	0,0444 10	0,0265 81	0,0292 04	1,0000 00
A4	0,2105 57	0,6082 92	0,9620 88	1,0000 00		0,3804 04	0,3698 74	0,5261 95	0,0525 26	0,0318 12	0,0348 80	1,0000 00
A5	1,0000 00	1,0000 00	0,9970 87	0,4173 49	0,3804 04		0,0000 78	0,0002 01	0,0000 18	0,0000 18	0,0000 18	0,3988 61
B0	0,0000 30	0,0003 09	0,0063 09	0,3349 06	0,3698 74	0,0000 78		1,0000 00	0,9997 24	0,9984 82	0,9988 48	0,3520 32
B1	0,0000 59	0,0008 30	0,0143 99	0,4866 09	0,5261 95	0,0002 01	1,0000 00		0,9972 89	0,9906 11	0,9923 32	0,5061 74
B2	0,0000 18	0,0000 22	0,0002 09	0,0444 10	0,0525 26	0,0000 18	0,9997 24	0,9972 89		1,0000 00	1,0000 00	0,0482 88
B3	0,0000 18	0,0000 19	0,0001 05	0,0265 81	0,0318 12	0,0000 18	0,9984 82	0,9906 11	1,0000 00		1,0000 00	0,0290 71
B4	0,0000 18	0,0000 20	0,0001 18	0,0292 04	0,0348 80	0,0000 18	0,9988 48	0,9923 32	1,0000 00	1,0000 00		0,0319 08
B5	0,2238 23	0,6281 30	0,9671 62	1,0000 00	1,0000 00	0,3988 61	0,3520 32	0,5061 74	0,0482 88	0,0290 71	0,0319 08	

Tabela 33 - Resultados obtidos do peso das esferas do estudo, 0,60% pectina +0,6% alginato (A) ao longo do tempo, através do teste Tukey HSD, para um nível de confiança $\alpha=0.05$

Grupos	A0	A1	A2	A3	A4	A5
A0		0,991652	0,143356	0,360984	0,226260	0,088526
A1	0,991652		0,327111	0,666716	0,475031	0,214103
A2	0,143356	0,327111		0,985359	0,999585	0,999585
A3	0,360984	0,666716	0,985359		0,999267	0,927557
A4	0,226260	0,475031	0,999585	0,999267		0,988817
A5	0,088526	0,214103	0,999585	0,927557	0,988817	

Tabela 34 - Resultados obtidos do peso das esferas do estudo, 0,75% pectina e 0,6% alginato (B), ao longo do tempo, através do teste Tukey HSD, para um nível de confiança $\alpha=0.05$

Grupos	B0	B1	B2	B3	B4	B5
B0		0,119852	0,425119	0,065138	0,065138	0,005667
B1	0,119852		0,943041	0,998808	0,998808	0,479040
B2	0,425119	0,943041		0,800123	0,800123	0,140840
B3	0,065138	0,998808	0,800123		1,000000	0,691017
B4	0,065138	0,998808	0,800123	1,000000		0,691017
B5	0,005667	0,479040	0,140840	0,691017	0,691017	

Tabela 35 - Resultados obtidos da interação do peso das esferas dos estudos, 0,60% pectina e 0,6% alginato (A) e do estudo 0,75% pectina e 0,6% alginato (B), ao longo do tempo, através do teste Tukey HSD, para um nível de confiança $\alpha=0.05$

Gru pos	A0	A1	A2	A3	A4	A5	B0	B1	B2	B3	B4	B5
A0		0,9999 89	0,3462 94	0,7103 97	0,5105 21	0,2178 19	0,4247 39	0,9999 89	1,0000 00	0,9979 93	0,9979 93	0,4043 51
A1	0,99 9989		0,6669 65	0,9456 53	0,8277 46	0,4886 13	0,1800 91	1,0000 00	0,9979 93	1,0000 00	1,0000 00	0,7314 94
A2	0,34 6294	0,6669 65		0,9999 63	1,0000 00	1,0000 00	0,0020 40	0,6669 65	0,1800 91	0,8758 11	0,8758 11	1,0000 00
A3	0,71 0397	0,9456 53	0,9999 63		1,0000 00	0,9985 90	0,0084 37	0,9456 53	0,4668 45	0,9949 18	0,9949 18	0,9999 95
A4	0,51 0521	0,8277 46	1,0000 00	1,0000 00		0,9999 80	0,0039 58	0,8277 46	0,2933 34	0,9611 83	0,9611 83	1,0000 00
A5	0,21 7819	0,4886 13	1,0000 00	0,9985 90	0,9999 80		0,0010 67	0,4886 13	0,1044 36	0,7314 94	0,7314 94	1,0000 00
B0	0,42 4739	0,1800 91	0,0020 40	0,0084 37	0,0039 58	0,0010 67		0,1800 91	0,6669 65	0,0841 47	0,0841 47	0,0026 12
B1	0,99 9989	1,0000 00	0,6669 65	0,9456 53	0,8277 46	0,4886 13	0,1800 91		0,9979 93	1,0000 00	1,0000 00	0,7314 94
B2	1,00 0000	0,9979 93	0,1800 91	0,4668 45	0,2933 34	0,1044 36	0,6669 65	0,9979 93		0,9676 31	0,9676 31	0,2178 19
B3	0,99 7993	1,0000 00	0,8758 11	0,9949 18	0,9611 83	0,7314 94	0,0841 47	1,0000 00	0,9676 31		1,0000 00	0,9152 19
B4	0,99 7993	1,0000 00	0,8758 11	0,9949 18	0,9611 83	0,7314 94	0,0841 47	1,0000 00	0,9676 31	1,0000 00		0,9152 19
B5	0,40 4351	0,7314 94	1,0000 00	0,9999 95	1,0000 00	1,0000 00	0,0026 12	0,7314 94	0,2178 19	0,9152 19	0,9152 19	

APÊNDICE VII – Caso de estudo: Estudo das esferas em preparado / Iogurte ao longo do tempo de vida.

Tabela 36 - Resultados obtidos do xarope, preparado aromatizado e do preparado aromatizado em iogurte no tempo 0 e no tempo 1. Estes resultados apresentam os valores da análise estatística ANOVA dos parâmetros avaliados.

	Dias	p- value
Xarope	t0+2 dias	
	t1	0,061032
Preparado aromatizado	t0+2 dias	
	t1	0,096264
Xarope e preparado aromatizado	t0+2 dias	
	t1	0,147396
Xarope e preparado aromatizado + Preparado aromatizado + iogurte	t0 (2,10,21)	
	T1 (2,10,21)	0,238373
Preparado aromatizado + iogurte	t0 (2,10,21)	
	T1 (2,10,21)	0,511125

Tabela 37 - Resultados obtidos da interacção do preparado aromatizado com o preparado aromatizado e iogurte ao longo do tempo, através do teste Tukey HSD, para um nível de confiança $\alpha=0.05$

	1	2	3	4
Preparado (0 dias) (1)		0,002753	0,024846	0,000565
t0+2 dias (2)	0,002753		0,862927	0,942958
t0+10dias(3)	0,024846	0,862927		0,540213
t0+21dias(4)	0,000565	0,942958	0,540213	

Tabela 38 - Resultados obtidos da interação do preparado aromatizado com o preparado aromatizado e iogurte ao longo do tempo, através do teste Tukey HSD, para um nível de confiança $\alpha=0.05$

	1	2	3	4
Preparado (30 dias) (1)		0,701582	0,991680	0,567830
t1+2 dias (2)	0,701582		0,856550	0,996475
t1+10dias(3)	0,991680	0,856550		0,743930
t1+21dias(4)	0,567830	0,996475	0,743930	

APÊNDICE VIII – Outras aplicações das Bubbles

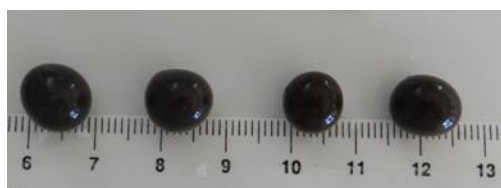


Figura 34- Bubble de Chocolate



Figura 33- Bubble de Café, com dióxido de titânio



Figura 32- Bubble de Café

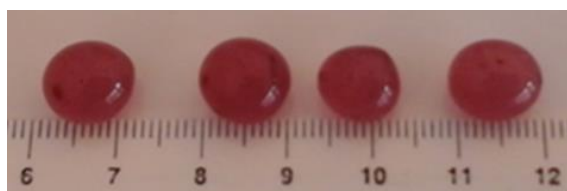


Figura 40- Bubble de Mirtilo

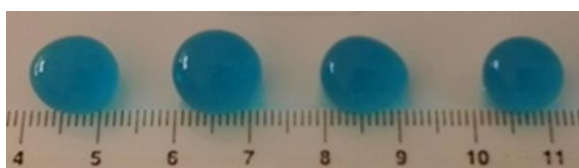


Figura 41- Bubble de Blue curaçao



Figura 42- Bubble de Vinho de Porto



Figura 43- Bubble de Melancia com sementes de papoila

